Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

151. BAND, 3. HEFT

MIT 21 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 5. JUNI 1956)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1956

Z.anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die „**Zeitschrift für analytische Chemie**" erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Band 151 **Inhaltsverzeichnis** Heft 3

Originalabhandlungen

Seite

Mutschin, A., und **Chr. Glassmann,** Zur Beurteilung der Paraffine. Mit 13 Textabbildungen 161

Ruf, E., Photometrische Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure aus einer Lösung nach Isolierung der beiden Stoffe durch Extraktion mit Isobutylalkohol. Mit 7 Textabbildungen 169

Ramanjaneyulu, J. V. S., and **B. K. Shukla,** Inorganic Complexes in Volumetric Analysis. Part III. Use of Ferric Fluoride Complex in the Estimation of Iodide 184

Tišler, M., 4-substituierte Thiosemicarbazide als Reagentien zur Charakterisierung von Aldehyden und Ketonen. III. 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid 187

Pfudl, H., Beiträge zum Nachweis von Monobromessigsäure 191

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem anal. Laboratorium der Fa. Zschimmer & Schwarz AG. Oberlahnstein/Rh.

Zur Beurteilung der Paraffine

Von

A. Mutschin und Chr. Glassmann

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. November 1955)

Die Reedsche[8] Sulfochlorierung an den Fischer-Tropsch-Fraktionen, das sind hauptsächlich Kohlenwasserstoffe mit unverzweigten, langgestreckten Hauptvalenzketten, verläuft nach Asinger[1] nach dem Schema:

$$R'(R'')CH_2 + SO_2 + Cl_2 + h\nu \rightarrow R'(R'')CH - SO_2Cl + HCl \quad \ldots \quad (a)$$

wobei $h\nu$ die eingestrahlte Lichtenergie bedeutet. Ein Teil der Kohlenwasserstoffe bleibt unverändert, außerdem entstehen noch in geringer Menge Produkte, welche Kettenchlor enthalten, mehrfach chloriert und sulfochloriert sind. Mit Alkali verseift geht das Sulfochlorid in Alkylsulfonat über:

$$R'(R'')CH - SO_2Cl + 2\,MeOH \rightarrow R'(R'')CH - SO_3Me + MeCl + H_2O \quad \ldots \quad (b)$$

Die hydrophile Gruppe ($-SO_3Me$) erscheint statistisch fast über die gesamte Polymethylenkette verteilt, was der Wirkung einer Verzweigung nahe kommt.

Fragestellung. Kann man aus einem Alkylsulfonat, welches nach den Reaktionen (a) und (b) entstanden ist, noch auf besondere physikalische und chemische Eigenschaften des zugrunde gelegten Kohlenwasserstoffes schließen? Unter Kohlenwasserstoffe sind hierbei nicht nur Fischer-Tropsch-Fraktionen, sondern auch handelsübliche Paraffine und Ceresine zu verstehen. Die Beantwortung dieser Frage entbehrt nicht eines allgemeinen Interesses.

Methodik. Die Abtrennung des Unsulfierten aus den Alkylsulfonaten mit anschließender Feststellung seiner physikalischen und chemischen Kennzahlen reicht zur Beurteilung der Ausgangskohlenwasserstoffe nicht aus[6]. Tieferen Einblick gewinnt man erst durch Aufnahmen von Ultrarot-Absorptionsspektrogrammen und durch die Beurteilung der Erstarrungsformen im polarisierten Licht.

Die Ultrarot-Absorptionsspektrogramme müssen untereinander vergleichbar sein, was man an stets gleich starken Filmen der einzelnen Kohlenwasserstoffe auf den NaCl-Scheiben erreicht. Hierzu eignen sich besonders ihre verdünnten Lösungen in Petroläther, von denen immer dieselbe Menge, z. B. 0,7 ml ausgegossen und

getrocknet worden sind. Die Technik dieser Vorbereitungen ist schon von W. Brügel[2] beschrieben worden. Je höher die Schmelzpunkte der untersuchten Kohlenwasserstoffe liegen, um so schwieriger erhält man gleichmäßige Filme. Durch bloßes Aufschmelzen einzelner Paraffine (Ceresine) auf den NaCl-Scheiben konnten wir keine stets brauchbaren, reproduzierbaren und vergleichbaren Filme erzeugen.

Um die Erstarrungsformen der Kohlenwasserstoffe im polarisierten Licht besser beobachten zu können, erschien es zweckmäßig, über die kleine Einrichtung nach W. Hessler[5] hinauszugehen, nach der dünne Ausstriche hergestellt werden. Wir haben darauf Wert gelegt, die Objektträger mit dem Untersuchungsmaterial nur wenig über dessen Schmelzpunkt zu erwärmen und nach vollständiger Verflüssigung der Kohlenwasserstoffe sie sogleich auszustreichen. Im Gegensatz zu Hessler wurden dazu nicht Glasstäbe, sondern die Kanten geschliffener Objektträger ververwendet. Nach der Kristallisation und dem völligen Erstarren der Substanzen

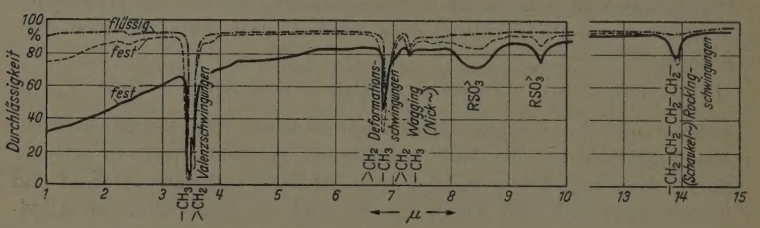


Abb. 1. UR-Aufnahmen der unsulfierten Anteile dreier Alkylsulfonate

wurden sie in den Strahlengang eines Polarisationsmikroskopes gelegt, wobei ein Gipsplättchen (Rot I) zwischengeschaltet wurde. Die dabei auftretenden Farbunterschiede erleichtern die Beobachtung und Unterscheidung der einzelnen Kristallformen.

Ergebnisse. Abb. 1 zeigt die UR-Aufnahmen der unsulfierten (US) Anteile dreier Alkylsulfonate. Der strichpunktierten Kurve liegt eine bekannte Fischer-Tropsch-Fraktion (Paraffingatsch) zugrunde, welche bei gewöhnlicher Temperatur halb flüssig ist; während der Aufnahme war das zugehörige US vollständig flüssig. Der strichlierten Kurve entspricht als Ausgangsprodukt der Sulfochlorierung ein bekanntes, handelsübliches Paraffin 50/52. Das entsprechende US war während der Aufnahme fest. Die ausgezogene Kurve bezieht sich auf das US eines Alkylsulfonates unbekannter Herstellungsgrundlage, welches gleichfalls fest war.

Vergleicht man die drei Kurven, so bemerkt man die Übereinstimmung der Absorptionsbanden bis auf gewisse Unterschiede; hierzu gehört die Divergenz der Linien mit abnehmender und ihre Annäherung mit zunehmender Wellenlänge. Am stärksten weichen die drei Kurven im Bereich von 1—3 μ voneinander ab; dabei handelt es sich um Streuungen an den Kohlenwasserstoff-Kristalloiden, welche sich während der Aufnahmen zwischen den NaCl-Scheiben gebildet hatten. Bei den kleinsten Wellenlängen sind die Streuungen am stärksten. Die Kurven fallen bis auf die beiden R —SO_3'-Banden zusammen, wenn alle drei US-Anteile

im flüssigen Zustand aufgenommen werden, da keine Kristalloide mehr vorhanden sind.

Ein weiterer Unterschied zwischen den drei Kurven hängt mit dem Gehalt des US-Anteiles an Sulfonat zusammen. Dies gilt für die strichlierte und ausgezogene Kurve, während die strichpunktierte davon frei zu sein scheint. Die vollständigere Abtrennung des US vom Verseiften hängt nicht nur vom Aggregatzustand, sondern auch von der Zahl der Auswaschungen ab. (NERNSTscher Verteilungssatz). Man sollte dieser Feststellung bei der Bestimmung des Unsulfierten (Unsulfonierbaren), früher auch Unverseifbares genannt, nach der üblichen konventionellen Methode[4] Beachtung schenken.

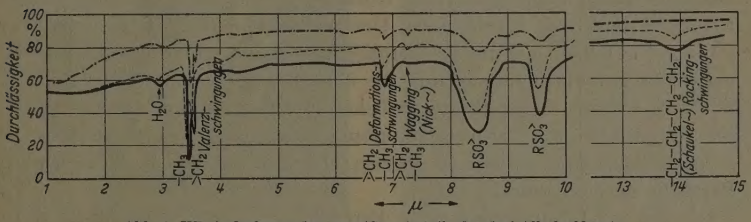


Abb. 2. UR-Aufnahmen der verseiften Anteile der drei Alkylsulfonate

Wer bereits UR-Aufnahmen von US ausgewertet hat, wird unsere Beobachtungen bestätigen, daß im allgemeinen nach der konventionellen Methode keine quantitative Trennung des US vom Sulfierten stattfindet. Meistens enthalten die US-Anteile noch wechselnde Mengen an Sulfonat. Die gleichen Verhältnisse treffen auch auf dieBestimmung des US neben dem Sulfierten anderer als aliphatischer Kohlenwasserstoffe zu. Die allgemeine Bemerkung[9], daß der Anteil an Neutralöl, beziehungsweise das Unsulfonierte oder Unsulfonierbare (sowie Unsulfatierte oder Unsulfatierbare) sich durch Lösungsmittelextraktion mit Petroläther (Diäthyläther) aus wäßrigen Lösungen bestimmen läßt, trifft nur bedingt zu. Eine weitgehende Trennung beider Anteile, US und Sulfiertes, kann nur durch mehrfaches Auswaschen des US mit Wasser erreicht werden.

Abb. 2 enthält die UR-Aufnahmen der verseiften Anteile (WaS) der drei Alkylsulfonate. Die strichpunktierten, strichlierten und ausgezogenen Kurven in Abb. 1 und 2 entsprechen einander, weil sie von denselben Kohlenwasserstoffen stammen. Die Herkunft der R—SO_3'-Banden in Abb. 1 wird durch Vergleich mit Abb. 2 verständlich.

Die Steigschmelzpunkte[3] des US (strichlierte Linie in Abb. 1) und des zugehörigen Paraffins 50/52 (strichlierte Linie in Abb. 2) weichen mit 26 und 51° C beträchtlich voneinander ab. Auch weitere Schmelzpunktbestimmungen an handelsüblichen Paraffinen und Ceresinen als auch an den US-Anteilen der aus ihnen nach den Gleichungen (a) und

(b) hergestellten *Sulfonate*, ergaben keine Übereinstimmung. Meist liegen die Schmelzpunkte der US-Anteile tiefer als die Steigschmelzpunkte der Ausgangskohlenwasserstoffe. Ein — vergleichsweise — höherer Schmelzpunkt eines US, läßt noch keinen Schluß auf die besonderen Eigenschaften des Basiskohlenwasserstoffes zu.

Wir haben eine Reihe handelsüblicher Paraffine (Ceresine) aus verschiedenen Bezugsquellen, darunter Paraffine 48/50, 50/52, 52/54 und Ceresine 70, 70/72 nicht nur nach gleichen Steigschmelzpunkten, sondern auch nach ähnlichen morphologischen Merkmalen VZ und JZ zusammengefaßt. Zur Aufnahme von UR-Diagrammen wurden, wie bereits erwähnt, *Lösungen in Petroläther* hergestellt. Trotz nahezu gleicher Eigenschaften traten bemerkenswerte Unterschiede in der Löslichkeit auf. Noch viel deutlicher wurden diese Unterschiede bei den UR-Aufnahmen selbst. Wir haben auf die Wiedergabe der Diagramme verzichtet und verweisen auf die Kataloge und die einschlägige Fachliteratur, z. B.[7]. Mit dem US aus dem Sulfonat unbekannter Herstellung, dessen Steigschmelzpunkt zu 40° C ermittelt worden ist, (ausgezogene Linie in Abb. 1) stimmte keine der Aufnahmen überein, ebensowenig die nahezu gleichen Paraffine untereinander.

Sowohl der Lösungsvorgang in Petroläther — die Beobachtung des Abdunstens auf den NaCl-Scheiben — als auch des Verlaufes der Steigschmelzpunktbestimmung und die UR-Aufnahme legten die Vermutung nahe, daß im US (Schm.P. 40° C) ein Gemisch vorliegt, bei dem mikrokristalloide, höherschmelzende Anteile zu niedriger schmelzenden zugesetzt worden sind.

Aus der Übereinstimmung physikalischer und chemischer Kennzahlen, sowie morphologischer Merkmale, läßt sich noch nicht auf die Gleichheit zweier oder mehrererer Paraffine (Ceresine) schließen. Erst die UR-Diagramme unter vergleichbaren Bedingungen können die Übereinstimmung im kristalloiden (molekularen) Aufbau erbringen.

Das Gebiet der UR-Absorptionsspektrogramme von Kohlenwasserstoffen und ihren Derivaten ist bereits gründlich bearbeitet und katalogisiert. Als Beispiel sei die Zusammenstellung von H. L. McMurry und V. Thornton[7] genannt. UR-Aufnahmen kann man aber leider nur mit einem sehr kostspieligen modernen Gerät durchführen (Leitz, Perkin-Elmer, Beckman usw.). Dem gegenüber ist *die mikroskopische Untersuchung im polarisierten Licht* wesentlich billiger und auch einfacher. Es ist daher verständlich, wenn sie in der Industrie und dem Handel mit natürlichen und künstlichen Wachsen gerne angewandt wird; außerdem sind die Farbphotos sehr eindrucksvoll und augenfällig.

In den Bildern 3—13 sind die Mikrowachse (Bild 6 und 13) von allen sonstigen Kohlenwasserstoffen deutlich unterschieden. Bild 6 entspricht einem handelüblichen Ceresin mit einem Schmelzpunkt von 70° C,

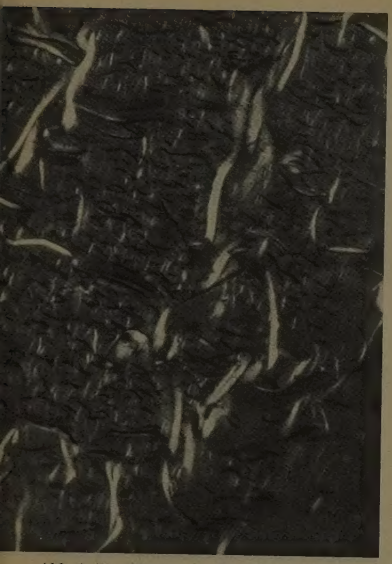


Abb. 3. Unsulfiertes von Paraffin 50/52

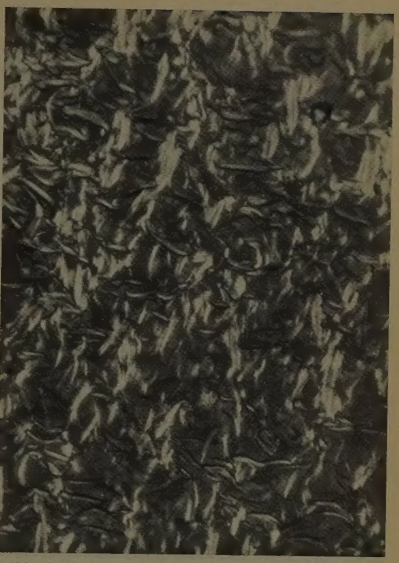


Abb. 4. Unsulfiertes unbekannter Paraffingrundlage

Abb. 5. Tafelparaffin 50/52

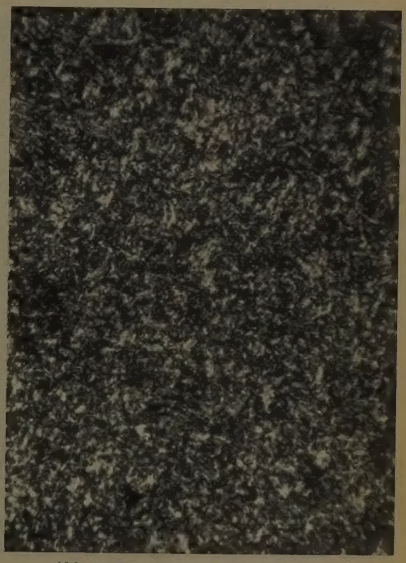


Abb. 6. Mikrokristalline Paraffintype 70

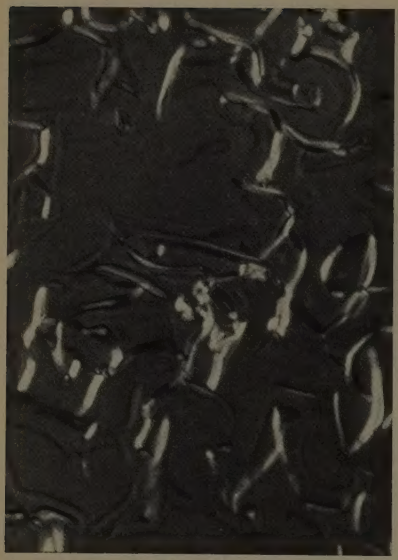


Abb. 7. Paraffin 50/52

Abb. 8. Ia Tafelparaffin 48/50

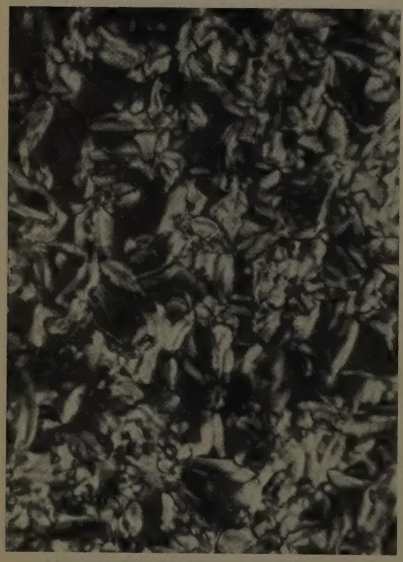


Abb. 9. Vollraffineriertes Tafelparaffin 52/54

Abb. 10. Weißes vollraffineriertes Tafelparaffin 50/52

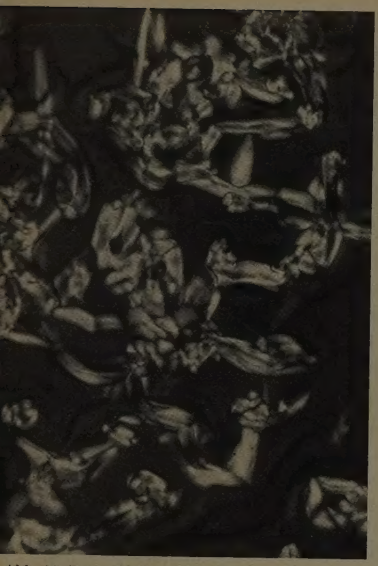


Abb. 11. Doppelraffineriertes Tafelparaffin 48/50

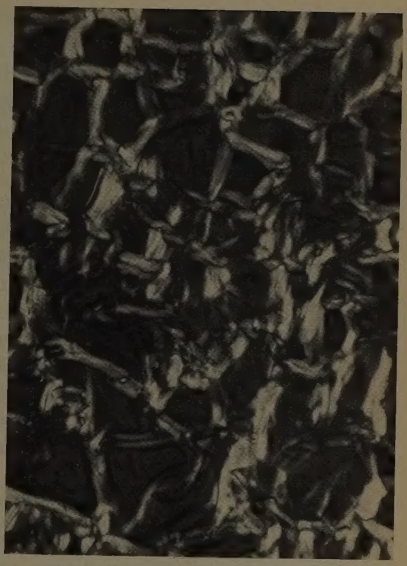


Abb. 12. Vollraffineriertes Tafelparaffin 52/54

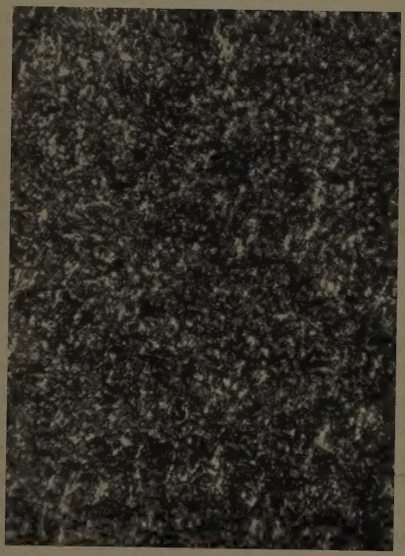


Abb. 13. Mikrokristalline Wachstype weißlich 70/72

Bild 13 einem Ceresin von 70/72; hier ist die Übereinstimmung groß. Eine gewisse Ähnlichkeit besteht noch zwischen den Bildern 3 und 7. Häufigkeit und Länge der weißen und blauen Kristalloide deutet auf die Verwandtschaft beider Typen hin. Bild 7 stellt ein handelsübliches Paraffin 50/52 dar, Bild 3, das US dazu, welches aus dem Sulfonat dieses Paraffins erhalten wurde.

Bild 4 zeigt das US des wiederholt erwähnten Sulfonates unbekannter Herstellung. Verglichen mit sämtlichen Mikroaufnahmen ist keine Übereinstimmung mit ihnen festzustellen, demnach kein Rückschluß auf die Grundlage der Sulfochlorierung im Rahmen der willkürlich herausgegriffenen Paraffine und Ceresine möglich. Die Bilder 8 und 11 wurden von Paraffinen 48/50, die Bilder 5, 7 und 10 von Paraffinen 50/52 und die Bilder 9 und 12 von 52/54 angefertigt. Trotz gewisser Gruppenübereinstimmung sind die einzelnen Paraffinsorten deutlich voneinander unterschieden. Die Paraffine zu Bild 9 und 12 sind nicht nur durch ihre charakteristischen Mikroaufnahmen, sondern auch durch die UR-Diagramme scharf voneinander zu trennen.

Es wurden Mischungen von Paraffinen mit geringen Mengen höher schmelzender mikrokristalliner Wachse (Ceresine) hergestellt, sulfochloriert, verseift und das US abgetrennt; hiervon wurden Farbphotos und UR-Diagramme hergestellt, mit dem Ergebnis, daß eine bemerkenswerte Übereinstimmung bei bestimmten Mischungen mit dem US des Alkylsulfonates unbekannter Herstellungsgrundlage erzielt werden konnte.

Es können an Stelle der Farbphotos auch Schwarzweißaufnahmen angefertigt werden; sie sind jedoch bei weitem nicht so eindrucksvoll. Werden Farbaufnahmen am laufenden Band hergestellt, empfiehlt es sich, von dem Film- und Kopiermaterial einen größeren Vorrat anzuschaffen. Das Arbeiten mit immer demselben Material bewahrt vor Enttäuschungen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Die qualitative Feststellung, ob ein Kohlenwasserstoff durch Sulfochlorierung und Verseifung zur Herstellung eines bestimmten Alkylsulfonates gedient hat, läßt sich anhand chemischer Kennzahlen und einfacher physikalischer Konstanten seines US-Anteiles kaum beantworten. Es wird gezeigt, daß man durch Vergleiche von UR-Diagrammen, insbesondere aber durch Farbphotos der US-Anteile der Alkylsulfonate unbekannter Grundlage mit den US-Anteilen aus der Sulfochlorierung und Verseifung handelsüblicher Kohlenwasserstoffe bzw. ihrer Mischungen zu besseren Ergebnissen gelangt.

Literatur

[1] Asinger, F.: Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 191 (1944). — [2] Brügel, W.: Einführung in die Ultrarotspektrographie, Seite 192/193 (1954). — [3] DGF-Methoden C—IV 3a(1952) Seite 2. — [4] DGF-Methoden G—III 6b(1950). — [5] Hessler, W.: Fette und Seifen **55**, 529 (1953). — [6] Ivanovsky, L.: Wachsenzyklopädie, I. Band, Seite 63 (1954). — [7] McMurry, H. L., and V. Thornton: Analyt. Chemistry **24**, 318 (1952). — [8] Reed und Horn: AP 2, 046; 2, 174. 110; 2, 263. 312; FP 849. 393. — [9] Stüpel, H.: Synthetische Wasch- und Reinigungsmittel Seite 475 (1954).

Dr. A. Mutschin, Oberlahnstein, Postfach 19

Aus dem analytischen Laboratorium der Th. Goldschmidt A.-G., Essen

Photometrische Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure aus einer Lösung nach Isolierung der beiden Stoffe durch Extraktion mit Isobutylalkohol

Von

Erich Ruf

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Januar 1956)

Einleitung

Als die wichtigsten Methoden zur photometrischen Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure sind die Verfahren zu bezeichnen, die sich der Komplexbildung mit Molybdänsäure bedienen. Hierbei entstehen je nach den Arbeitsbedingungen mehr oder weniger stark farbige Heteropolysäuren. Die analytische Auswertbarkeit dieser komplexen Heteropolymolybdate beruht einerseits darauf, daß durch die Komplexbildung das chemische Verhalten von Molybdat geändert wird, andererseits darauf, daß sich diese komplexen Heteropolyverbindungen bei ihrer Verteilung zwischen zwei praktisch nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten wesentlich voneinander und auch von ihren Komponenten unterscheiden, wie im folgenden noch gezeigt wird. Phosphor- sowie Silicomolybdate bieten für eine photometrische Betimmung prinzipiell zwei Möglichkeiten. Einmal kann man ihre gelbe Eigenfärbung messen. Eine zweite Möglichkeit ergibt sich dadurch, daß das Oxydationspotential der Komplexe wesentlich höher ist als das der Molybdate. Diese komplexen Phosphor- und Silicomolybdate werden durch reduzierende Reagentien wie z. B. Zinn(II)-chlorid, Hydroxylamin, Hydrazin, Eisen(II)-salz, Metol, Hydrochinon usw. unter bestimmten Arbeitsbedingungen zu Phosphor- bzw. Silicomolybdänblau reduziert. Wohl kaum anderen analytischen Farbreaktionen sind so viele Arbeiten gewidmet worden wie gerade der

„Molybdänblaumethode" zur Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure. Wesentlich geringer ist die Zahl der Veröffentlichungen, die eine Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure nebeneinander zum Inhalt haben. Vor allem sind die meisten der hierfür bis jetzt bekannten Methoden umständlich, zeitraubend und wenig genau, zum Teil auch unzuverläßig. Weiter unten soll auf einige Veröffentlichungen auf diesem Gebiet eingegangen werden.

Von den zahlreichen Molybdänphosphorsäuren interessiert vom analytischen Standpunkt aus praktisch nur die 12-Säure, da im wesentlichen nur sie gelb gefärbt und gegen Reduktionsmittel empfindlich ist. In der Literatur werden für die 12-Säure Formeln wie $H_7P(Mo_2O_7)_6$ und $H_3PO_4 \cdot 12\ MoO_3$ angegeben. Bei der Kieselsäure kennt man nur einen Verbindungstyp mit dem Verhältnis Si : Mo wie 1 : 12. In der Literatur werden analog zur Phosphorverbindung die Formeln $H_8\ Si(Mo_2O_7)_6$ bzw. $SiO_2 \cdot 12\ MoO_3$ angegeben. Eine photometrische Bestimmung von Kieselsäure, die auf der Komplexbildung mit Molybdat beruht, wird durch anwesendes Phosphat gestört, da die Molybdänphosphorsäure sehr ähnliche chemische Eigenschaften besitzt wie die Molybdänkieselsäure.

Literaturübersicht

Im folgenden sollen die hauptsächlichsten Arbeitsweisen erwähnt werden, die für photometrische Bestimmungen von Kieselsäure und Phosphorsäure bzw. bei Bestimmungen von Kieselsäure in Gegenwart von Phosphat vorgeschlagen wurden:

Bereits A. Jolles u. F. Neurath[7] weisen bei der Beschreibung ihrer colorimetrischen Methode zur Bestimmung von Kieselsäure darauf hin, daß Phosphor und Arsen stören. A. G. Woodman u. L. L. Cayvan[18], F. P. Veitch[14] ferner O. Schreiner[11] sowie A. T. Lincoln u. P. Barker[9] berichten über gleichzeitige Bestimmungen von Phosphor und Kieselsäure, die folgendes zum Inhalt haben: Durch Wahl eines geeigneten Säuregrades erzielen die Autoren einen Unterschied in den Bildungsgeschwindigkeiten der beiden Molybdatkomplexe. Demzufolge wird zunächst der Phosphorgehalt und nach entsprechender Zeit der Gesamtgehalt von Phosphor und Kieselsäure bestimmt, so daß sich der Kieselsäuregehalt aus der Differenz der Meßwerte ergibt. O. Liebknecht[8] versucht nach dem Verfahren von L. W. Winkler[17] die Störungen der colorimetrischen Bestimmung von Kieselsäure durch Phosphat und Eisen durch Fällung mit Calciumcarbonat zu umgehen. K. Babko[2] sowie K. A. Wassiljew u. O. D. Barinowa[16] versuchen die Störung der Kieselsäurebestimmung durch Phosphat durch Zugabe von Oxal- oder Weinsäure bzw. die Störung durch Fluor durch Zugabe von Aluminiumsalz zu beseitigen. J. Huré u. Th. Ortis[6] führen ihre colorimetrische Bestimmung von Kieselsäure in Gegenwart von Phosphaten und Arsenaten so durch, daß sie Phosphate und Arsenate durch Extraktion der wäßrigen Lösung der Molybdatkomplexe mit Äthylacetat entfernen. R. Devaux[5] hat das Verfahren von J. P. Alimarin u. V. S. Zverev[1] näher untersucht. Die Autoren schalten die Störung bei der Kieselsäurebestimmung in Gegenwart von Phosphat und Eisen(III)-salz durch Zusatz von überschüssiger Phosphorsäure aus, die bei bestimmter Arbeitsweise die Färbung des Phosphormolybdats zerstört, ohne die des Silicomolybdats zu beeinträchtigen und sich außerdem mit Fe^{III} zu farblosem, undissoziiertem Phosphat verbindet. D. Rozental u. H. C. Campbell[10] beseitigen bei ihrem Verfahren zur Bestimmung

von Kieselsäure die Störung von Eisen und Phosphat durch Zugabe von Natriumfluorid, das innerhalb bestimmter Arbeitsbedingungen den Phosphormolybdänkomplex entfärbt, während der Silicomolybdänkomplex nicht angegriffen werden soll. J. Boyd[4] versucht die Störung von Phosphor bei der spektrophotometrischen Bestimmung von Silicium und Mangan in Gußeisen durch Wahl eines geeigneten Säuregrades auszuschalten. Demzufolge wird nach Angabe des Autors bei Mengen bis zu 0,9% Phosphor die Bildung von Phosphormolybdänsäure unterdrückt. M. A. de Sesa u. L. Rogers[12] sowie C. Wadelin u. M. G. Mellon[15] berichten über die Abtrennung der Phosphorsäure von Arsen-, Germanium- und Kieselsäure durch Extraktion. Die zuerst genannten Autoren verwenden Isoamylacetat. Nach ihren Angaben läßt sich auch Arsenmolybdänsäure extrahieren, wenn die wäßrige Lösung 16–17,5% Alkohol enthält. C. Wadelin u. M. G. Mellon verwenden ein Gemisch von n-Butanol und Chloroform als Extraktionsmittel. Die Autoren sind in der Lage, auf diese Weise Phosphor in Gegenwart von Arsen-, Germanium- und Kieselsäure zu bestimmen.

Bis jetzt aber ist noch kein Verfahren zur photometrischen Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure aus einer Lösung bekannt, das die Extraktion der beiden Stoffe mit dem gleichen Lösungsmittel zum Inhalt hat.

Verfahren, die sich der Extraktion bedienen, haben ganz allgemein betrachtet zwei wesentliche Vorteile. Einmal kann man durch die Ausschüttelungsoperation eine Anreicherung erzielen, und zum anderen ist die Bestimmung des extrahierten Stoffes, dank der durchgeführten Extraktion, weitgehend unabhängig von der Zusammensetzung und Eigenfarbe der wäßrigen Lösung. Es kann also kein wesentlicher Salzfehler auftreten, d. h. der Einfluß nicht absorbierender Zusätze auf die Lichtabsorption wird ausgeschaltet. Im folgenden soll über die Möglichkeit für eine gleichzeitige Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure auf diesem Wege berichtet werden.

Versuche und Versuchsergebnisse

Für die Versuche wurden folgende Reagentien angewandt: KH_2PO_4 p. a., konz. Salzsäure p. a., $(NH_4)_6(Mo_7O_{24}) \cdot 4\,H_2O$ p. a., Isobutylalkohol der Firma Riedel-de Haen A.G. sowie Silicatlösungen, die durch Verdünnen aus einer Wasserglaslösung hergestellt wurden.

Die photometrischen Untersuchungen wurden mit einem Spektrophotometer der Firma Carl Zeiss mit Monochromator M4 Q durchgeführt. Die folgenden Tabellen und Abbildungen sind mit P oder Si bezeichnet, je nachdem, ob die Untersuchungen an Phosphor- oder Silicomolybdänsäurelösungen durchgeführt wurden.

Bei dem Versuch, das Absorptionsmaximum für Phosphor- sowie Silicomolybdänsäure zu bestimmen, zeigt sich, daß die Absorption mit abnehmender Wellenlänge stetig zunimmt. Es wurden deshalb alle weiteren Untersuchungen an den beiden Molybdatkomplexen, soweit nichts anderes angegeben ist, bei 380 mμ durchgeführt.

Ermittlung der zur optimalen Farbentwicklung erforderlichen HCl-Konzentration

Durch Extinktionsmessungen an der gelben Eigenfärbung der beiden Molybdatkomplexe wurde die zur optimalen Farbentwicklung notwendige HCl-Konzentration

ermittelt. Es wurden 10 ml 0,001 m Phosphor- bzw. 10 ml 0,001 m Si-Lösung, jeweils 2 ml 0,12 m Mo-Lösung (hergestellt durch entsprechende Einwaage von $(NH_4)_6(Mo_7O_{24}) \cdot 4\,H_2O$) sowie wechselnde Mengen einer genau 2,08 n HCl-Lösung angewandt. Die Extinktionswerte der einzelnen Lösungen wurden für Phosphorsäure unmittelbar nach dem Auffüllen auf 100 ml und für Kieselsäure 4 Std nach dem Auffüllen auf 100 ml jeweils in der 2 cm-Küvette ermittelt.

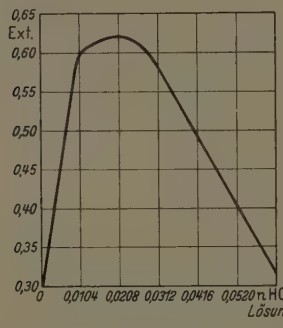


Abb. 1a
(Si) Extinktion in Abhängigkeit vom p_H-Wert

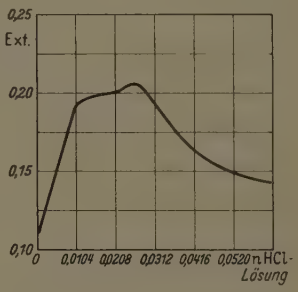


Abb. 1b
(P) Extinktion in Abhängigkeit vom p_H-Wert

Die erhaltenen Kurven sind in Abb. 1a und 1b wiedergegeben. Wie man hieraus ersieht, erhält man bei Phosphormolybdänsäure in Bezug auf die zugegebene Säuremenge in 0,025 n HCl-Lösung und bei Silicomolybdänsäure in 0,021 n HCl-Lösung jeweils optimale Farbentwicklung. Die optimalen Säurebereiche sind also für beide Molybdatkomplexe nicht wesentlich verschieden.

Zeitabhängigkeit der Farbintensität

Es wurde nun die zeitliche Beständigkeit der gelben Eigenfärbung der beiden Komplexverbindungen sowohl bei optimalem als auch bei nicht optimalem p_H-Wert untersucht. Die angewandten Reagensmengen waren bei nicht optimalem p_H-Wert 10 ml einer 0,001 m Si-Lösung, 2 ml einer 0,12 m Mo-Lösung und 2,5 ml einer 2,08 n HCl-Lösung auf 100 ml. Bei optimalem p_H-Wert wurden 5 ml einer 0,001 m Si-Lösung, ferner 2 ml einer 0,12 m Mo-Lösung sowie 1 ml einer 2,08 n HCl-Lösung auf 100 ml angewandt. Es wurde dann jeweils die Extinktion in Abhängigkeit von der Zeit in der 2 cm-Küvette bei 380 mμ ermittelt.

Wie man aus den Abb. 2a und 2b erkennt, bildet sich Silicomolybdänsäure bei nicht optimalem p_H-Wert selbst nach 2 Std noch nicht quantitativ, während sie sich bei optimalem p_H-Wert nach 30 min bei Zimmertemperatur quantitativ gebildet hat. Versucht man durch Erhitzen der Lösung die Komplexbildung zu beschleunigen, so erzielt man praktisch keinen wesentlichen Vorteil. Man muß hierbei zwei Faktoren berücksichtigen. Einmal muß man bei optimalem p_H-Wert arbeiten; die Einhaltung eines bestimmten p_H-Wertes ist aber bei Siedehitze wesentlich

schwieriger als bei Zimmertemperatur, da hierbei bevorzugt Wasser verdampft und die Lösung dadurch automatisch stärker sauer wird. Ferner muß man nach dem Erhitzen die Lösung gut abkühlen. Wir konnten nämlich feststellen, daß bei erhöhter Temperatur freies Molybdat mit

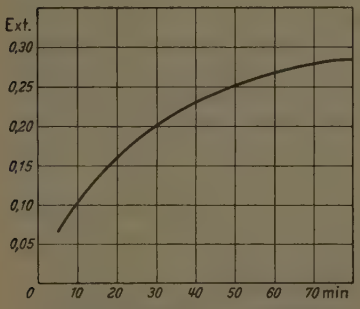


Abb. 2a. (Si) Extinktion in Abhängigkeit von der Zeit (nicht optimaler p_H-Wert)

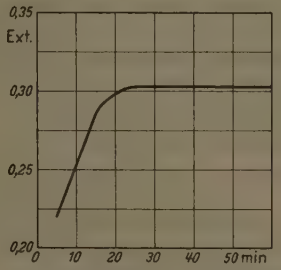


Abb. 2b. (Si) Extinktion in Abhängigkeit von der Zeit (optimaler p_H-Wert)

Säure gelbe Acidokomplexe bildet, die sich mit Isobutylalkohol teilweise extrahieren lassen. Kühlt man die Lösung jedoch genügend ab, so wird sie wieder vollkommen farblos und es wird aus einer solchen Lösung kein Molybdat extrahiert. Offensichtlich bilden sich diese Acidokomplexe des Molybdäns bei Zimmertemperatur und oben erwähnter HCl-Konzentration nicht. Wir stellten fest, daß die gelb gefärbten Acidokomplexe bei unserer Arbeitsweise etwa ab 45—50° C auftreten.

Phosphormolybdänsäure zeigt im Gegensatz zu Silicomolybdänsäure keine zeitliche Veränderung der Farbintensität (vgl. Tab. 1).

Es wurden 10 ml einer 0,001 m P-Lösung und 2 ml 0,12 m Mo-Lösung sowie 1,2 ml 2,08 n HCl-Lösung auf 100 ml Lösung und eine 2 cm-Küvette angewandt.

Tabelle 1. *(P)*

Zeit in min	Extinktion
0	0,205
5	0,205
10	0,205
15	0,205
25	0,205
30	0,205
35	0,203
40	0,205
60	0,205
nach 12 Std	0,205

Verhalten der Heteropolymolybdate gegen Säuren- bzw. Laugeneinwirkung

Nach Ermittlung der optimalen Bildungsbedingungen von Phosphor- und Silicomolybdänsäure sollten ihre Eigenschaften näher betrachtet werden. Wir untersuchten zunächst, inwieweit sich Unterschiede im Verhalten der beiden Heteropolysäuren gegenüber Säureeinwirkung ergeben. Versetzt man eine Silicomolybdänsäurelösung, die etwa 35 min bei optimalem p_H-Wert gestanden hat, tropfenweise mit konz. Salzsäure, so kann man visuell, auch bei Zugabe großer Mengen konz. HCl-Lösung, bei Berücksichtigung

des Verdünnungsgrades keine Farbschwächung feststellen. Versetzt man unmittelbar frisch hergestellte Silicomolybdänsäurelösung mit konz. Salzsäure, so tritt wie bei Phosphormolybdänsäure weitestgehende Entfärbung ein. Es läßt sich also hinsichtlich der Säureeinwirkung auf die Molybdatkomplexe folgendes sagen. Der Phosphormolybdänsäurekomplex, der sich beim Zusammengeben von Phosphat, Molybdat und erforderlicher Säuremenge sofort bildet, ist gegenüber weiterem HCl-Zusatz stark empfindlich und kann durch entsprechende Säuremengen zerstört werden. Die Komplexbildung der Kieselsäure mit Molybdat erfolgt nicht sofort; hat sich aber der Komplex einmal gebildet, so ist er wesentlich unempfindlicher gegenüber Säurezusatz als Phosphormolybdänsäure.

Tabelle 2. *(Si). Abhängigkeit der Extinktion einer verschieden stark angesäuerten Silicomolybdänsäurelösung von der Zeit.*
(Es wurden jeweils 25 ml Silicomolybdänsäurelösung angewandt und bei 380 mμ in der 1 cm-Küvette gemessen)

Zeit in min	Extinktion			
	H_2O	5 ml Salzsäure	10 ml Salzsäure	12,5 ml Salzsäure
0	0,215	0,215	0,215	0,215
5	0,215	0,215	0,215	0,215
10	0,215	0,215	0,215	0,215
15	0,215	0,215	0,215	0,212
20	0,215	0,213	0,212	0,210
25	0,215	0,213	0,210	0,209

Um in Erfahrung zu bringen, inwieweit Silicomolybdänsäure HCl verträgt, ohne selbst angegriffen zu werden, wurden jeweils 25 ml unter optimalen Bedingungen hergestellte Silicomolybdänsäurelösung einmal mit Wasser, dann mit 5 ml, mit 10 ml und schließlich mit 12,5 ml konz. Salzsäure versetzt und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Sodann wurde die zeitliche Änderung der Extinktionen dieser so vorbereiteten Lösungen ermittelt. Die erhaltenen Werte sind in Tab. 2 wiedergegeben.

Man kann auch 25 ml Silicomolybdänsäure mit konz. HCl-Lösung auf 100 ml verdünnen und erhält unmittelbar nach Auffüllen den gleichen Extinktionswert. Bei diesen Messungen wurde jeweils die angewandte Säuremenge als Vergleichslösung angewandt. Die Tab. 2 zeigt, daß man 100 ml Silicomolybdänsäurelösung durchaus mit 10 ml konz. Salzsäure versetzen kann, ohne daß innerhalb 15 min eine Änderung der Farbintensität eintritt. Phosphormolybdänsäure ihrerseits — 300 μg Phosphor wurden angewandt — wird beim Versetzen mit 10 ml konz. Salzsäure und kräftigem Umschütteln alsbald praktisch vollkommen entfärbt.

Gegenüber alkalischem bzw. ammoniakalischem Milieu sind die gelben Molybdatkomplexe äußerst empfindlich; nur wenige Tropfen Lauge bzw. Ammoniak bewirken bei neutralen Lösungen der Molybdatkomplexe eine vollkommene Entfärbung.

Ein wesentlicher Faktor bei der Herstellung von Silicomolybdänsäure ist, wie wir feststellten, die Anwendung eines Molybdatüberschusses über das Verhältnis Si : Mo = 1 : 12 hinaus. Wählt man das Verhältnis gerade 1 : 12 oder kleiner, so bildet sich Silicomolybdänsäure praktisch überhaupt nicht oder nur zu einem geringen Teil. Selbst wenn das Verhältnis nur wenig über 1 : 12 liegt, geht die Komplexbildung nicht so rasch und vollständig vor sich, wie es bei einem größeren Überschuß von Molybdat der Fall ist. Bei Phosphormolybdänsäure macht sich diese Erscheinung nicht so bemerkbar. Es ist aber auch hier ratsam, einen Überschuß an Molybdat anzuwenden. Überschüssiges Phosphat würde die Bildung niederer Phosphormolybdatkomplexe verursachen, die praktisch nicht farbig und weitaus unempfindlicher gegenüber Reduktionsmitteln sind.

Untersuchungen über die Verteilung der Heteropolysäuren

Phosphormolybdänsäure läßt sich leicht mit bestimmten organischen Lösungsmitteln ausschütteln. K. Stoll[13] hat Essigester und J. Berenblum u. E. Chain[3] haben Isobutylalkohol als Extraktionsmittel angewendet. Nach diesen Arbeitsmethoden soll sich Silicomolybdänsäure nicht extrahieren lassen. Wir versuchten nun zunächst Silicomolybdänsäurelösungen, die 35 min bei optimalem p_H-Wert gestanden hatten, mit Cyclohexanon, Cyclohexanol, Isobutylalkohol, Essigester, Benzol, Diäthyläther und Chloroform auszuschütteln. Jedoch blieb die Silicomolybdänsäure quantitativ in der wäßrigen Phase, wodurch die Angaben der eben erwähnten Autoren bestätigt werden. Wir versetzten darauf Silicomolybdänsäure, die 35 min bei optimalem p_H-Wert gestanden hatte, mit wachsenden Mengen konz. Salzsäure und versuchten nun nochmals mit den erwähnten organischen Lösungsmitteln zu extrahieren. Dabei zeigte sich, daß Silicomolybdänsäure mit zunehmender Säuremenge immer leichter in die ersten drei genannten Lösungsmittel zu überführen war; bei Essigester war die Verteilung bei gleicher Säuremenge nicht ganz so gut und bei Diäthyläther schon wesentlich schlechter. Jedoch konnte Silicomolybdänsäure nach weiterer HCl-Zugabe auch mit Essigester quantitativ extrahiert werden. Auch die Verteilung in Diäthyläther wird mit zunehmender HCl-Menge günstiger.

Der Extraktionsbereich von Silicomolybdänsäure und Phosphormolybdänsäure in Abhängigkeit vom Säuregrad wurde nun durch Messung der nach Reduktion mit Zinn(II)-chlorid bzw. Metol erhaltenen Blaufärbung genauer untersucht.

Zur Festlegung des Extraktionsbereiches der Kieselsäure wurden jeweils die gleiche Si-Menge sowie 2 ml 0,12 m Mo-Lösung und 1 ml 2,08 n HCl-Lösung zusammengegeben und auf 100 ml mit Wasser in einem 250 ml Schütteltrichter verdünnt. Die so vorbereiteten Lösungen wurden 35 min stehengelassen, dann mit von Versuch zu Versuch wechselnden Mengen konz. Salzsäure versetzt und jeweils zweimal mit je 30 ml Isobutylalkohol extrahiert. Die vereinigten beiden isobutyl-

alkoholischen Phasen wurden einmal mit 30 ml 1,5 n HCl-Lösung gewaschen, um etwa in Spuren mitextrahiertes freies Molybdat wieder zu entfernen. Hierauf ließ man die wäßrige Schicht ab, gab ungefähr 40 ml destilliertes Wasser und 25 ml Chloroform in den Scheidetrichter und schüttelte durch. Dabei wurde die Silicomolybdänsäure aus dem Isobutylalkohol in die wäßrige Phase übergeführt, während der Isobutylalkohol selbst mit Chloroform eine Phase bildete. Sodann wurde die Unterphase (Chloroform-Isobutylalkohol) in einen zweiten Scheidetrichter abgelassen und einmal mit etwa 30 ml Wasser durchgeschüttelt, um die letzten Anteile der Silicomolybdänsäure in die wäßrige Phase zu überführen. Dann entfernte man die Unterphase und ließ die vereinigten wäßrigen Schichten in einen 200 ml-Meßkolben ab, in den zuvor 50 ml Wasser und 10 ml konz. Salzsäure gegeben worden waren. Sodann wurde mit 2 ml Zinn(II)-chloridlösung (0,1 m an Zinn und 2 n an HCl) reduziert und zur Marke aufgefüllt. Die erhaltene Blaufärbung wurde bei 730 mμ in der 1 cm-Küvette gemessen.

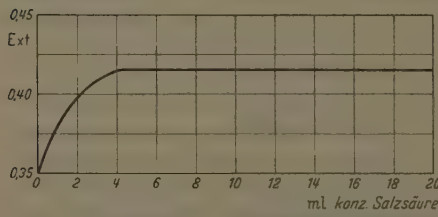


Abb. 3a. (Si) Extraktion in Abhängigkeit vom Säuregrad

Wie die Abb. 3a zeigt, wird Silicomolybdänsäure bereits nach Zugabe von 5 ml konz. Salzsäure zu 100 ml Lösung mit Isobutylalkohol nach unserer Arbeitsweise vollkommen extrahiert. Die Kurve, die den Extraktionsbereich wiedergibt, verläuft von 5 ml Salzsäure an horizontal. Mit zunehmender Säurekonzentration löst sich auch mehr Isobutylalkohol in der wäßrigen Phase. Ferner hat die Anwendung von zu viel Salzsäure den Nachteil, daß die Farbintensität der Lösung bei längerer Einwirkungszeit abnimmt, wie die in Tab. 2 (S. 174) aufgeführten Werte zeigen. Jedoch läßt sich die Ausschüttelung von Silicomolybdänsäure bequem in der Zeitspanne durchführen, in der bei den in Tab. 2 aufgeführten HCl-Konzentrationen noch nicht die geringste Änderung der Farbintensität eintritt.

Den Extraktionsbereich für Phosphormolybdänsäure in Abhängigkeit von der Säurekonzentration ermittelten wir durch Messung des mit Metol erzeugten Phosphormolybdänblaus.

Es wurden hierzu jeweils eine gleiche Phosphormenge, 2 ml 0,12 m Mo-Lösung sowie wechselnde Mengen Salzsäure angewandt. Sodann wurde je zweimal mit 25 ml Isobutylalkohol extrahiert. Die vereinigten isobutylalkoholischen Phasen wurden einmal mit 50 ml 0,01 n Salzsäure gewaschen. Anschließend wurde nach Zugabe von 3 ml Metollösung (2 g Metol, 10 g Na_2SO_3 und 300 g $NaHSO_3$ auf 1000 ml) und Wasser das beim Durchschütteln erhaltene Phosphormolybdänblau sofort quantitativ in die wäßrige Phase übergeführt. Nach Auffüllen in einem 100 ml-Meßkolben wurde in der 1 cm-Küvette bei 730 mμ gemessen.

Wie Abb. 3b zeigt, wird Phosphormolybdänsäure im Bereich von 0,01 n Salzsäure bis zu einer HCl-Konzentration von 0,3 n quantitativ extrahiert.

Darüber hinaus wird Phosphormolybdänsäure wahrscheinlich durch die vermehrte Säurekonzentration angegriffen, da die Extinktion merklich abfällt. Der relativ große Extraktionsbereich bewirkt, daß man für gleiche Phosphorkonzentrationen gleiche Extinktionswerte erhält, wenn man die zur Bildung der Heteropolysäure erforderliche HCl-Menge zwischen 0,01 und 0,2 n HCl-Konzentration variiert, und nach vorausgegangener Extraktion mit Isobutylalkohol die Messung mit Hilfe der durch Metol erzeugten Blaufärbung durchführt.

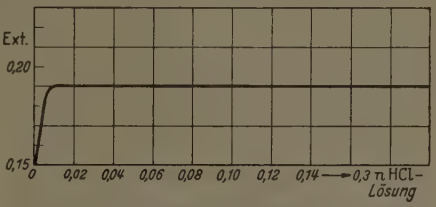


Abb. 3b (P) Extraktion in Abhängigkeit vom Säuregrad

Eigenschaften von Phosphor-, Silicomolybdänblau sowie reinem Molybdänblau

Nachdem nun optimale Extraktionsbedingungen für Phosphor- und Silicomolybdänsäure ermittelt waren, untersuchten wir das Verhalten von mit Zinn(II)-chlorid erzeugtem Phophor-, Silicomolybdänblau sowie reinem Molybdänblau gegenüber Säuren und Laugen sowie ihre Löslichkeit in Isobutylalkohol. Dabei stellten wir fest, daß Phosphor-, Silicomolybdänblau wie auch reines Molybdänblau mit konz. Salzsäure behandelt werden können, ohne daß die Farbe zerstört wird. Molybdänblau als solches verträgt jedoch nur dann größere Säuremengen, wenn es zuvor in schwach HCl-saurer Lösung mit Zinn(II)-chlorid reduziert worden ist. Versetzt man dagegen eine reine Molybdatlösung zuerst mit 10 ml konz. HCl-Lösung und gibt nachträglich Zinn(II)-chlorid zu, so entsteht kein Molybdänblau, sondern eine gelbbraun gefärbte Lösung. Verdünnt man diese anschließend mit Wasser, so ändert sich ihr Farbton nicht mehr. Für die Erzeugung von einfachem Molybdänblau ist also der vor der Reduktion vorliegende Säuregrad ausschlaggebend. Versetzt man Molybdänblaulösung mit konz. Natronlauge, so wird Molybdänblau sofort zerstört und die Lösung färbt sich gelbbraun. Phosphormolybdänblau — es wurden 25 ml Phosphor- bzw. Silicomolybdänblaulösung mit 50 ml konz. Natronlauge versetzt und auf 200 ml mit destilliertem Wasser verdünnt — wird durch Lauge innerhalb von 10—20 min zerstört, während die Silicomolybdänblaufärbung mehrere Tage bei Einwirkung von Lauge bestehen bleibt. Man hat dadurch die Möglichkeit, Phosphor- und Kieselsäure durch das unterschiedliche Verhalten der Reduktionsprodukte der Molybdatkomplexe gegen Lauge eindeutig qualitativ nachzuweisen. Die drei Reduktionsprodukte Phosphor-, Silicomolybdänblau und reines Molybdänblau unterscheiden sich auch in ihrer Löslichkeit in Isobutyl-

alkohol. Reduziert man Phosphor- und Silicomolybdänsäure, die jeweils unter optimalen Bedingungen hergestellt worden sind, mit sehr wenig festem Zinn(II)-chlorid, so geht beim Durchschütteln der einzelnen Lösungen mit Isobutylalkohol Phosphormolybdänblau zum größten Teil in Isobutylalkohol. Die in der wäßrigen Phase noch vorhandene Blaufärbung dürfte von überschüssigem Molybdat herrühren, denn Molybdänblau allein geht unter diesen Bedingungen nicht in Isobutylalkohol, wie ein entsprechender Versuch zeigte. Silicomolybdänblau dagegen geht bei gleicher Säurekonzentration nur teilweise in die isobutylalkoholische Phase. Durch Zugabe von entsprechenden Säuremengen kann man schließlich alle drei Reduktionsprodukte quantitativ in Isobutylalkohol überführen. Gibt man zu diesen Lösungen wieder entsprechende Mengen Lauge, so macht man die interessante Feststellung, daß alle drei Reduktionsprodukte wieder in die wäßrige Phase übergeführt werden. Das unterschiedliche Verhalten in der Löslichkeit dieser drei Reduktionsprodukte bei verschiedenen Säurekonzentrationen im System Isobutylalkohol — Wasser kann man wahrscheinlich durch einen Wechsel der Aufladung dieser Reduktionsprodukte erklären.

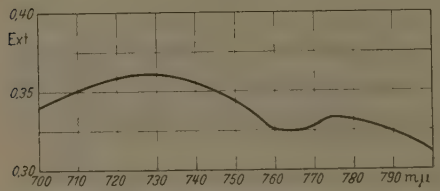


Abb. 4a (Si) Extinktion in Abhängigkeit von der Wellenlänge

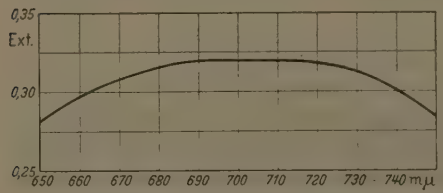


Abb. 4b (P) Extinktion in Abhängigkeit von der Wellenlänge

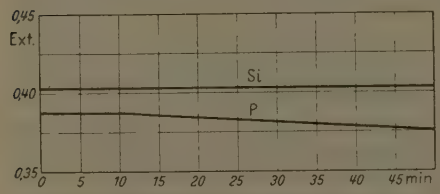


Abb. 5. Abhängigkeit der Blaufärbung von der Zeit

Wie aus den Abb. 4a und 4b zu erkennen ist, zeigen Phosphor- und Silicomolybdänblau auch gewisse Unterschiede im Verlauf der Extinktionskurven. Das Absorptionsmaximum für Silicomolybdänblau (mit Zinn(II)-chlorid erzeugt) liegt bei 730 mμ, während das Maximum für Phosphormolybdänblau (mit Metol erzeugt) sich vom 690—720 mμ erstreckt. Aus Zweckmäßigkeitsgründen haben wir beide Blaufärbungen bei 730 mμ gemessen.

Zeitabhängigkeit der Farbintensität der blaugefärbten Reduktionsprodukte

Die Ergebnisse der Zeitversuche sind in Abb. 5 graphisch dargestellt. Die Silicomolybdänblaulösung wurde durch Reduktion mit Zinn(II)-chlorid erhalten und zusätzlich mit 10 ml konz. Salzsäure auf 200 ml versetzt. Die Lösung zeigt über mehrere Tage keine Änderung ihrer Farbintensität. Enthält die Lösung weniger Säure, so ist die Farbintensität zeitlich nicht so lange konstant. Gibt man keine Säure zu, so tritt Trübung durch ausfallendes Zinnhydroxyd auf. Phosphormolybdänblaulösung, die durch Reduktion mit Metol erhalten wurde, zeigt innerhalb 10 min praktisch keine Änderung ihrer Farbintensität. Danach erfolgt eine leichte Extinktionsabnahme.

Mit diesen Erkenntnissen ist man nunmehr in der Lage, Phosphor- und Kieselsäure nacheinander aus einer gemeinsamen Lösung leicht und quantitativ mit Isobutylalkohol zu extrahieren und anschließend durch Messung der durch Reduktion erzeugten Blaufärbung zu bestimmen.

Aufstellung der Eichkurven

Bekannte, abgestufte Konzentrationen von Phosphor- und Kieselsäure wurden genau nach der in der Arbeitsvorschrift (S. 180) angegebenen Arbeitsweise behandelt. Wie die Abb. 6a und 6b zeigen, stellen die erhaltenen Eichkurven Geraden dar; den Bestimmungen liegt also jeweils die Gültigkeit des Beerschen Gesetzes zugrunde.

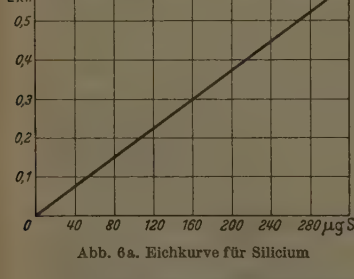


Abb. 6a. Eichkurve für Silicium

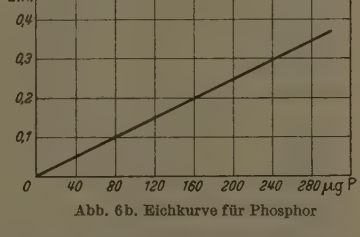


Abb. 6b. Eichkurve für Phosphor

Da zwischen den Konzentrationen der Lösungen und ihren Extinktionen lineare Beziehungen bestehen, kann man auch die gesuchte Konzentration mit einem Eichfaktor berechnen. Bei Gültigkeit des Beerschen Gesetzes gilt allgemein die Beziehung $c = E \cdot F$ (c = Konzentration, E = Extinktion, F = Eichfaktor). Nach unserer Arbeitsweise lassen sich die gesuchten Konzentrationen auch mit Hilfe folgender Formeln berechnen:

$$\% \text{ P} = \frac{\text{E} \cdot 0{,}820 \cdot \text{Auffüllung in ml}}{\text{Einwaage in mg} \cdot \text{Schichtdicke in cm}},$$

$$\% \text{ Si} = \frac{\text{E} \cdot 0{,}533 \cdot \text{Auffüllung in ml}}{\text{Einwaage in mg} \cdot 2 \cdot \text{Schichtdicke in cm}}.$$

Die Genauigkeit, die sich mit diesen Eichkurven erreichen läßt, zeigen folgende Testbestimmungen (Tab. 3).

Es wurde aus einer bekannten Wasserglaslösung, deren Gehalt auf gravimetrischem Wege bestimmt wurde, durch Verdünnen eine Lösung bekannten Si-Gehaltes hergestellt. Ferner wurde durch genaue Einwaage von KH_2PO_4 (p. a.) eine Phophatlösung hergestellt, deren Gehalt noch gravimetrisch überprüft wurde. Von den so hergestellten Lösungen wurden jeweils abgemessene Mengen zur Genauigkeitsprüfung angewandt.

Tabelle 3

Vorgelegte P- und Si-Mengen in μg	Photometrisch ermittelte P- und Si-Mengen in μg	Abweichung der photometrischen Bestimmung von den gravimetrisch ermittelten Werten in %
200 P	198 P	— 1,00
200 Si	199 Si	— 0,50
120 P	122 P	+ 1,67
65 Si	64 Si	— 1,54
250 P	250 P	0,00
40 Si	41 Si	+ 2,50
200 P	204 P	+ 2,00
80 Si	82 Si	+ 2,50
50 P	49 P	— 2,00
60 Si	62 Si	+ 3,33

Wie man aus den Testbestimmungen Tab. 3 ersieht, lassen sich Phosphor- und Kieselsäure nach der oben angeführten Arbeitsweise mit den ermittelten Eichkurven mit guter Genauigkeit bestimmen.

Arbeitsvorschrift

Folgende Reagentien werden benötigt: Etwa 0,6 m Mo-Lösung [hergestellt durch Einwaage von 6/7 Mol $(NH_4)_6(Mo_7O_{24}) \cdot 4\,H_2O$ (p. a.)], konz. Salzsäure (p. a.), 2 n HCl-Lösung, 1,5 n HCl-Lösung, 0,01 n HCl-Lösung, 0,1%ige alkoholische Phenolphthaleinlösung, Isobutylalkohol, Chloroform.

Bestimmung. In einen 250 ml-Scheidetrichter werden innerhalb der Eichkurven liegende Mengen von Phosphor- und Kieselsäure sowie 1,5 ml 0,6 m Mo-Lösung und 0,6 ml 2 n HCl-Lösung gegeben und mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Liegt eine Lösung unbekannten p_H-Wertes vor, so wird ein aliquoter Teil zunächst gegen Phenolphthalein neutralisiert und mit den oben erwähnten Reagentien in der eben aufgeführten Reihenfolge versetzt. (Wird die Neutralisation mit Lauge durchgeführt, so ist in dem hierfür angewandten Volumen ebenfalls eine Kieselsäurebestimmung als Blindwert durchzuführen.) Sodann wird mit destilliertem Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Hierauf extrahiert man die wäßrige Lösung mit etwa 30 ml Isobutylalkohol und läßt nach Trennung der beiden Schichten die wäßrige Lösung in einen zweiten Scheidetrichter ab. Zu dieser wäßrigen Lösung werden etwa 20 ml Isobutylalkohol gegeben und nochmals kräftig durchgeschüttelt. Die wäßrige Schicht wird in einen weiteren Schütteltrichter abgelassen und mit 0,5 ml 0,6 m Mo-Lösung und 0,25 ml 2 n HCl-Lösung versetzt. Die vereinigten isobutylalkoholischen Lösungen werden mit 30 ml 0,01 n Salzsäure durchgeschüttelt, um

in Spuren vorhandene Silicomolybdänsäure wieder aus dem Isobutylalkohol herauszuwaschen. (Phosphormolybdänsäure geht dabei nicht in die wäßrige Phase zurück, wie wir eindeutig feststellen konnten. Andererseits wird Silicomolybdänsäure in 0,01 n HCl-Lösung durch Isobutylalkohol noch nicht extrahiert.) Die wäßrige Schicht wird zu der kieselsäurehaltigen Lösung gegeben, die nunmehr mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt und 35 min stehengelassen wird. Die vereinigten und mit 0,01 n Salzsäure gewaschenen isobutylalkoholischen Schichten werden mit 4 ml Metollösung (2 g Metol, 10 g Na_2SO_3 und 300 g $NaHSO_3$ auf 1000 ml) und etwa 25 ml Wasser versetzt und durchgeschüttelt. (Hierbei entsteht Phosphormolybdänblau, das bei nach dieser Arbeitsweise vorliegendem p_H-Wert vollkommen in die wäßrige Phase übergeht.) Die blaugefärbte wäßrige Lösung wird in einen 100 ml -Meßkolben abgelassen. Die isobutylalkoholische Schicht wird nochmals mit etwa 30 ml Wasser durchgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird wiederum in den 100 ml-Meßkolben abgelassen. Sodann wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und nach Umschütteln sofort bei 730 mμ gemessen. Der gefundene Extinktionswert ergibt an Hand der Eichkurve den Gehalt der Lösung an Phosphor.

Die kieselsäurehaltige Lösung wird nach 35 min mit 10 ml konz. Salzsäure versetzt und mit etwa 30 ml Isobutylalkohol extrahiert. Die wäßrige Lösung wird in einen 250 ml-Schütteltrichter abgelassen und nochmals mit etwa 25 ml Isobutylalkohol extrahiert. Die vereinigten isobutylalkoholischen Schichten werden mit etwa 30 ml 1,5 n HCl-Lösung durchgeschüttelt, um mitextrahiertes freies Molybdat wieder in die wäßrige Phase zu überführen. Nach Ablassen der wäßrigen Schicht werden etwa 30 ml destilliertes Wasser und etwa 25 ml Chloroform hinzugegeben und kräftig durchgeschüttelt. (Die Silicomolybdänsäure wird dadurch in die wäßrige Phase übergeführt, während Isobutylalkohol mit dem Chloroform eine Schicht bildet.) Die Unterphase wird in einen weiteren Schütteltrichter abgelassen und nochmals mit etwa 25 ml Wasser durchgeschüttelt. Die vereinigten wäßrigen Lösungen werden in einen 200 ml-Meßkolben, in den zuvor 10 ml konz. Salzsäure und etwa 50 ml Wasser gegeben wurden, abgelassen. Sodann wird mit 2 ml frisch angesetzter $SnCl_2$-Lösung (0,1 m an Sn und 2 n an HCl) reduziert. (Durch diese Arbeitsweise wird erreicht, daß Spuren von freiem Molybdat, die gegebenenfalls noch vorhanden sind, nicht in Molybdänblau, sondern in braungelbes bzw. orangefarbenes niederwertiges Molybdän überführt werden, das bei der Messung bei 730 mμ nicht stört.) Die blaugefärbte Lösung wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt. Nach Umschütteln wird bei 730 mμ gemessen. Der gefundene Extinktionswert ergibt an Hand der Eichkurve die gesuchte Konzentration an Silicium.

Kieselsäure läßt sich auch durch Messung der Eigenfärbung von Silicomolybdänsäure bestimmen. Dabei wird zunächst genau so vorgegangen wie bei der Bestimmung als Silicomolybdänblau. Nach dem Zurückschütteln mit Chloroform und Wasser werden die vereinigten wäßrigen Schichten auf 200 ml aufgefüllt und bei 300 mμ in der 1 cm-Küvette gemessen. Bei Berücksichtigung eines Blindwertes erhält man ebenfalls eine Gerade als Eichkurve.

Erläuterungen zur Arbeitsweise für die Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure

Wir haben die Reduktion der Phosphormolybdänsäure deshalb mit Metol durchgeführt, weil das so erzeugte Phosphormolybdänblau sofort vollkommen in die wäßrige Phase übergeht und wir somit vorteilhafter arbeiten, als wenn wir Phosphormolybdänblau in Isobutylalkohol bestimmten. Wenn man mit Zinn(II)-chlorid reduzierte, bliebe dagegen das

erzeugte Phosphormolybdänblau vollkommen im Isobutylalkohol. Außerdem würde Zinn(II)-chlorid auch Spuren von etwa noch vorhandenem freiem Molybdat bei diesem Säuregrad zu Molybdänblau reduzieren, im Gegensatz zur Arbeitsweise bei Kieselsäure.

Bei Silicomolybdänsäure ist die Lösung nach dem Ausschütteln mit Isobutylalkohol noch wesentlich saurer als bei Phophormolybdänsäure, so daß bei unmittelbarer Einwirkung von schwächeren Reduktionsmitteln wie Metol, Hydroxylamin, usw.. wenn man nicht wenigstens teilweise neutralisiert, keine Blaufärbung entsteht. Wir haben uns deshalb für Zinn(II)-chlorid als Reduktionsmittel entschlossen. Außerdem wird die Farbreaktion durch Anwendung von Zinn(II)-chlorid empfindlicher. Läßt man Zinn(II)-chlorid direkt auf die isobutylalkoholische Silicomolybdänsäurelösung einwirken, so bleibt das Silicomolybdänblau im Isobutylalkohol. Um vom Isobutylalkohol wegzukommen, haben wir die Silicomolybdänsäure vor der Reduktion mit Wasser ausgeschüttelt. Wir versuchten dieses zunächst durch Zugabe von soviel verdünnter Natronlauge zu erreichen, daß die mitextrahierte Säuremenge noch nicht ganz neutralisiert war. In einem Versuch hatten wir die Salzsäuremenge bestimmt, die bei der Extraktion in den Isobutylalkohol übergeht. Wir fanden, daß bei der oben erwähnten Arbeitsweise etwa 9 ml 2 n Salzsäure mitextrahiert wurden. Wenn man also etwa 6 ml 2 n NaOH-Lösung hinzugibt, so kann man die Silicomolybdänsäure bei 2—3maligem Ausschütteln mit jeweils etwa 20 ml Wasser vollkommen in die wäßrige Phase überführen. Jedoch erfolgt bei dieser Arbeitsweise eine schlechte Schichtentrennung. Ferner muß hierbei die Natronlaugenmenge immer im Unterschuß gegenüber der mitextrahierten Säuremenge angewandt werden, da ja Silicomolybdänsäure im alkalischen Medium sofort zerstört wird. Wir haben deshalb die Zurückführung der Silicomolybdänsäure in die wäßrige Phase durch Anwendung von Chloroform in der oben erwähnten Weise durchgeführt.

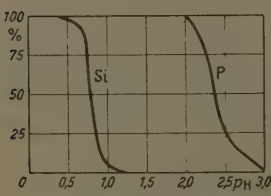


Abb. 7. Prozentuale Abhängigkeit der Extraktion von der Säurekonzentration

In Abb. 7 haben wir die prozentuale Extraktion von Phosphor- und Kieselsäure in Abhängigkeit vom Säuregrad graphisch dargestellt. Wie man daraus ersieht, wird bei unserer Arbeitsweise durch zweimalige Extraktion mit Isobutylalkohol Phosphorsäure aus 0,01 n Salzsäure und Kieselsäure aus 0,6 n Salzsäure quantitativ als Molybdatkomplex extrahiert. In diesem Zusammenhang sei noch erwähnt, daß eine Extraktion mit Essigester bei gleichem Säuregrad nicht so wirksam ist wie die mit Isobutylalkohol.

Der Säuregrad (10 ml konz. Salzsäure auf 100 ml Lösung), bei dem wir Silicomolybdänsäure extrahieren, ist in zweierlei Hinsicht vorteilhaft. Einmal erfolgt bei diesem sauren Milieu nach unserer Arbeitsweise leichte und quantitative Extraktion, ohne daß die Silicomolybdänsäure durch die Einwirkung dieser Säuremenge während 15 min auch nur im geringsten angegriffen wird. Zum anderen bietet dieser Säuregrad den Vorteil, daß Phosphormolybdänsäure im Bereich unserer Eichkurven durch diese Säuremenge quantitativ zerstört wird. Will man nur Kieselsäure neben Phosphor bestimmen, so kann man die Phosphorsäure einmal ausschütteln, wie bereits beschrieben, zum anderen kann man Phosphormolybdänsäure im Konzentrationsbereich der Eichkurve durch Zugabe von 10 ml konz. Salzsäure auf 100 ml Lösung nach kräftigem Umschütteln zerstören. Die Tatsache wird dadurch bewiesen, daß Phosphormolybdänsäure — es wurde jeweils die oberste Konzentration der Eichkurve gewählt — bei Zugabe von 10 ml konz. Salzsäure auf 100 ml Lösung gegen die entsprechende Säurekonzentration als Vergleichslösung bei 380 mμ keine Extinktion mehr zeigt. Extrahiert man eine solche Lösung mit Isobutylalkohol, so erhält man nach Reduktion mit Zinn(II)-chloridlösung noch eine geringe Blaufärbung. Diese Lösung wird nach dem Auffüllen auf 200 ml durch das Verdünnen vollkommen farblos. Man kann deshalb auch Kieselsäure neben Phosphorsäure, ohne Phosphormolybdänsäure aus der wäßrigen Lösung zu entfernen, quantitativ bestimmen, wie uns mehrere Versuche eindeutig bestätigten.

Zusammenfassung

Durch photometrische Untersuchungen an der Eigenfarbe komplexer Phosphor- und Silicomolybdate wurden die optimalen Bildungsbedingungen dieser Komplexe festgelegt. Es wurde ferner das Verhalten dieser beiden Molybdatkomplexe sowie ihrer blauen Reduktionsprodukte gegenüber Säuren und Alkali sowie ihre Verteilung zwischen Wasser und damit nicht mischbaren Lösungsmitteln untersucht. Neben einer qualitativen Nachweismöglichkeit von Phosphor- und Kieselsäure wurde eine Arbeitsmethode zur photometrischen Bestimmung von Phosphor- und Kieselsäure durch Messung der durch Metol bzw. Zinn(II)-chlorid erzeugten Blaufärbungen nach jeweiliger vorausgegangener Extraktion der Molybdatkomplexe mit Isobutylalkohol ausgearbeitet. Das Verfahren gestattet, kleine Mengen von Phosphor- und Kieselsäure aus einer gemeinsamen Lösung mit guter Genauigkeit zu bestimmen.

Literatur

[1] Alimarin, J. P., u. V. S. Zverev: Mikrochemie **22**, 89 (1937); vgl. auch diese Z. **119**, 9 (1940). — [2] Babko, K.: Ž. prikl. Chim., Ser. B (J. angew. Chem.) **10**, 374 (1937); vgl. Chem. Zbl. **1937** II, 1857. — [3] Berenblum, J., u. E. Chain: Biochemic. J. **32**, 295 (1938); vgl. diese Z. **124**, 60 (1942). — [4] Boyd, J. R.: Analyt. Chemistry

24, 805 (1952); vgl. diese Z. 137, 458 (1952/53). — [5] Devaux, R.: Chaleur et Ind. 31, 173 (1950); vgl. Chem. Zbl. 1951 I, 763. — [6] Huré, J., u. Th. Ortis: Bull. Soc. chim. France, Mém. (5), 16, 834 (1949); vgl. diese Z. 134, 144 (1951/52). — [7] Jolles, A., u. F. Neurath: Z. angew. Chem. 11, 315 (1898). — [8] Liebknecht, O., L. Gerb u. E. Bauer: Z. angew. Chem. 44, 860 (1931); vgl. diese Z. 90, 58 (1932). — [9] Lincoln, A. T., u. P. Barker: J. Amer. chem. Soc. 26, 975 (1904). — [10] Rozental, D., u. H. C. Campbell: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. 17, 222 (1945); vgl. diese Z. 129, 444 (1949). — [11] Schreiner, O.: J. Amer. chem. Soc. 25, 1056 (1903). — [12] de Sesa, M. A., u. L. B. Rogers: Analyt. Chemistry 26, 1381 (1954); vgl. diese Z. 147, 127 (1955). — [13] Stoll, K.: Diese Z. 112, 81 (1938). — [14] Veitch, F. P.: J. Amer. chem. Soc. 25, 169 (1903); vgl. dies Z. 55, 414 (1916). — [15] Wadelin, C., u. M. G. Mellon: Analyt. Chemistry 25, 1668 (1953); vgl. diese Z. 144, 148 (1955). — [16] Wassiljew, K. A., u. O. D. Barinowa: Zawodskaja Laborat. (Betriebslab.) 4, 1163 (1935); vgl. diese Z. 111, 288 (1937/38). — [17] Winkler, L. W.: Z. angew. Chem. 27, 511 (1914); vgl. diese Z. 54, 365 (1915). — [18] Woodman, A. G., u. L. L. Cayvan: J. Amer. chem. Soc. 23, 96 (1901).

Dr. E. Ruf, Essen, Heilermannstr. 15

Central Salt Research Institute, Bhavnagar (India)

Inorganic Complexes in Volumetric Analysis. Part III. Use of Ferric Fluoride Complex in the Estimation of Iodide

By

J. V. S. Ramanjaneyulu and B. K. Shukla

(Eingegangen am 27. Februar 1956)

In the earlier communications[2, 3] a method has been reported for the estimation of iodide using the chromic acid-hydriodic acid reaction, catalysed by oxalate at low concentrations of reactants. The excess of dichromate is reduced by ferrous ammonium sulphate, the free ferric ions thus formed removed by complexing with oxalate or phosphoric acid and the liberated iodine in solution titrated against standard sodium thiosulphate. We have now found that the ferric ions can also be bound in the form of stable fluoride anions. In fact this fluoride complex anion is much more stable than the oxalate or phosphate complex.

When a solution of ferric chloride is added to a neutral solution of sodium fluoride, sodium hexafluoferrate or sodium ferric fluoride of the composition Na_3FeF_6[1, 4] is obtained, which does not give red coloration with potassium thiocyanate showing thereby that the ferric iron is a part of the anion. We have investigated the stability of the complex under varying concentrations of hydrogen, fluoride and iodide ions with a view to arrive at the optimum conditions for the stability of the complex. Table 1 demonstrates the effect of the varying concentration of sodium fluoride on the decomposition of the complex.

Effect of Varying the Concentration of Sodium Fluoride

This shows that the amount of sodium fluoride must be about 15—20 times that of ferric iron for forming the stable complex, which does not break within half an hour when the overall acid concentration is 0.32 N and overall iodide concentration is 0.01 N.

Table 1.

5 ml. $FeCl_3$ solution (0.1N) + 4 ml. H_2SO_4 (4 N) + x ml. NaF solution (0.5 M) + 5 ml. starch solution (1%) + 10 ml. KI solution (0.1N) + water to make upto 50 ml.

ml. of sodium fluoride	Time for the first appearance of blue colour in minutes
20	more than 35
18	,, ,, 25
15	,, ,, 13
12	,, ,, 3
10	,, ,, 3
8	Immediate

Table 2.

5 ml. $FeCl_3$ solution (0.1 N) + x ml. H_2SO_4 (4 N) + 20 ml. NaF solution (0.5 N) + 10 ml. KI solution (0.1 N) + 5 ml. starch solution (1%) + water to make upto 50 ml.

ml of sulphuric acid.	Time for the first appearance of blue colour in minutes
2	more than 60
3	,, ,, 60
4	,, ,, 35
5	,, ,, 16
6	,, ,, 12
7	,, ,, 5

Table 3.

5 ml. $FeCl_3$ solution (0.1 N) + 3 ml. H_2SO_4 (4 N) + 20 ml. NaF solution (0.5 M) + x ml. KI solution (0.1 N) + 5 ml. starch solution (1%) + water to make upto 50 ml.

ml. of potassium iodide (0.1N)	Time for the first appearance of blue colour in minutes
10	more than 60
12	,, ,, 60
15	,, ,, 60
18	,, ,, 35
20	,, ,, 30

Table 4.

5 ml. $FeCl_3$ solution (0.1 N) + 3 ml. H_2SO_4 (4 N) + xml. complexing agent + 10 ml. KI solution (0.1 N) + 5 ml. starch solution (1%) + water to make upto 50 ml.

Nature of complexing agent	Time for the first appearance of blue colour in minutes
Oxalate	20
Phosphate . . .	30
Fluoride	more than 60

Effect of Varying the Concentration of Sulphuric Acid

It is clear from the Table 2 that the overall acid concentration should be preferably below 0.32 N, but for the purpose of analysis an overall acid concentration of 0.25N may be adopted for a wider margin with an overall iodide concentration of 0.01 N.

Effect of Varying the Concentration of Potassium Iodide

It is seen from Table 3 that even at the overall iodide concentration of 0.04 N the complex is not broken up within half an hour with an overall acid concentration of 0.25 N. But in actual practice the overall iodide concentration of 0.025 to 0.03 N may be used.

Relative Stability of the Ferric Complexes

Table 4 shows the relative stability of the ferric oxalate, phosphate and fluoride complexes. Under identical conditions the fluoride complex of iron is much more stable than the oxalate or phosphate complex and the stability is in the order fluoride → phosphate → oxalate.

Numerous estimations have been carried out by the authors for the estimation of iodide by the method described above using the ferric fluoride complex at various concentrations of iodide ranging from 0.02 to 0.001 N. A few of the numerous determinations of the iodide are given in the Table 5.

Table 5

mg. of iodine by Authors' method	mg. of iodine by standard iodate method
31.55	31.62
25.25	25.30
18.89	18.97
12.65	12.65
6.33	6.325

The authors have also carried out the above estimations in the presence of 5 to 10 g. of sodium chloride. The results obtained agree with the theoretical values when the iodide concentration is high, but at relatively low concentration the results were higher. But if 10 ml. of acetic acid were used in place of sulphuric acid in the above estimations, the results obtained were in agreement with the calculated ones and this modified method has been applied for the estimation of iodide in iodized salt. The following procedure has been recommended for the estimation of iodide in iodized salt.

Iodized salt (5 to 10 g.) is weighed accurately into an Erlenmeyer flask, dissolved in about 50 ml. of water and 5 ml. of dichromate solution (0.01 N), 10 ml. of acetic acid (1 : 4) and 1 ml. of sodium oxalate solution (0.1 N) are added. The mixture is allowed to stand for about 5—10 min after stoppering the flask. Then 6 ml. of ferrous ammonium sulphate solution (0.01 N) are added, followed by a few ml. of potassium iodide solution (0.1 N). The free iodine is titrated with standard sodium thiosulphate solution (0.002 N) which gives the amount of iodine present in the salt.

The authors desire to thank the authorities of the Central Salt Research Institute for their kind permission to publish the results.

Summary

The method for estimation of iodide formulated in the earlier publications of the series bas been modified by the use of sodium fluoride as the complexing agent in the place of oxalate or phosphoric acid. The results obtained are in excellent agreement with the calculated ones and the method has been successfully applied for the estimation of iodide in iodized salt.

References

[1] Greef, A.: Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 2511 (1913); cf. Z. analyt. Chem. **55**, 56 (1916). — [2] Ramanjaneyulu, J. V. S., and B. K. Shukla: Proc. Indian Science

Congress, 1956, Chemistry Section; Z. analyt. Chem. **151**, 31 (1956). — [3] Ramanjaneyulu, J. V. S., and B. K. Shukla: Proc. Indian Science Congress, 1956, Chemistry Section; Z. analyt. Chem. **151**, 34 (1956). — [4] Wagner, R.: Ber. dtsch. chem. Ges. **19**, 896 (1886).

J. V. S. Ramanjaneyulu, M. Sc., D. Sc., A. R. I. C. (London).
Senior Scientific Officer & Head of Division of Inorganic Chemistry,
Waghawadi Road, Bhavnagar, Saurashtra, India

Aus dem Institut für organische Chemie der Universität Ljubljana (Jugoslawien)

4-substituierte Thiosemicarbazide als Reagentien zur Charakterisierung von Aldehyden und Ketonen

III. 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid

Von
M. Tišler

(Eingegangen am 17. März 1956)

4-Phenylthiosemicarbazid und 4-p-Tolylthiosemicarbazid wurden zur Charakterisierung von Aldehyden und Ketonen bereits empfohlen[1, 6, 7]. Diese Reagentien haben sich zwar für die Charakterisierung von Carbonylverbindungen bewährt, jedoch wurden bei einigen niedrigen aliphatischen Aldehyden nur syrupähnliche Kondensationsprodukte erhalten. Es wurden daher andere verwandte Substanzen dieser Reihe in Betracht gezogen. Wir haben uns für 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid entschlossen, besonders wegen genügend leichter Zugänglichkeit, guter Haltbarkeit und da vermutet wurde, daß dieses Reagens schnell mit Carbonylverbindungen reagieren wird unter Abscheidung gut kristallisierter Derivate. Wirklich wurde gefunden, daß dieses Reagens ausgezeichnet ist und daß man es auch für niedrige aliphatische Aldehyde verwenden kann.

Damit ein Reagens gut brauchbar sei, soll es leicht zugänglich und haltbar sein; außerdem soll es sich mit Carbonylverbindungen quantitativ umsetzen unter Bildung stabiler Derivate, die leicht gereinigt werden können und die gutes Kristallisationsvermögen und genügend hohe Schmelzpunkte besitzen. Alle diese Eigenschaften werden in unserem Falle vollkommen erfüllt.

Herstellung des Reagenses. Da für die Bereitung des Reagenses in der Literatur[3, 5] nur mangelhafte Verfahren beschrieben sind, ist hier die Bereitung des Stoffes genau beschrieben: Man löst 8 g p-Bromphenylisothiocyanat[8] in 150 ml auf ungefähr 50° C erwärmtem 96%igem Äthylalkohol (die Lösung soll nicht bis zum Sieden erhitzt werden), gibt eine 50%ige Lösung von Hydrazinhydrat in kleinem Überschuß (5 g) unter Rühren auf einmal dazu und kühlt sofort gut. Die Kristalle des 4-p-Bromphenylthiosemicarbazids fallen bald aus, werden nach vollkommener Abkühlung

abfiltriert und aus Äthylalkohol umkristallisiert. Das Reagens ist in 96%igem Äthylalkohol ziemlich schwer löslich. Ungefähr 35 ml des Alkohols werden gebraucht, um 1 g Reagens bei Siedetemperatur in Lösung zu bringen. Die Ausbeute ist fast quantitativ (8,9 g). 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid schmilzt bei 185 bis 187° C unter Zersetzung (GUHA u. RAY[3] führen den Schmelzpunkt 189° C an).

Die verwendeten Aldehyde und Ketone waren käufliche Präparate und wurden ohne weitere Reinigung gebraucht. Die Aldehyde von n-Hexaldehyd bis n-Dodecylaldehyd und Methylhexylketon wurden uns von der Firma „Etol", Celje, freundlich überlassen, wofür auch hier unser Dank ausgesprochen sei.

Umsetzung von 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid mit Carbonylverbindungen.

Zu einer Lösung von 0,0025 Molen 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid in heißem 96%igem Äthylalkohol (20—25 ml) setzt man 0,0025 Mole Aldehyd oder Keton (allein oder gelöst in Alkohol) zu und erwärmt 5—10 min unter Rückfluß im Wasserbade bis zur Abscheidung schwer löslicher Derivate. Nur im Falle des Benzalacetons wurde ½ Std erwärmt. Wenn zufällig beim Erkalten der Lösung das Derivat nicht kristallisiert, destilliert man das Lösungsmittel bis zur beginnenden Kristallisation ab. Die erhaltenen Produkte werden aus Äthylalkohol oder, wenn sie in diesem schwerlöslich sind, unter Zusatz von kleinen Mengen Dioxan umkristallisiert.

Im Falle des Acetaldehyds und Propionaldehyds wurden nach dem erwähnten Verfahren nur sirupähnliche Kondensationsprodukte erhalten. Deshalb wurde für diese zwei Aldehyde folgendes Verfahren benutzt, das stets zu festen Derivaten führte: Man bereitete eine heiße alkoholische Lösung von 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid und gab dazu etwas weniger als die berechnete Menge des Aldehyds. Die Lösung wurde zum Sieden gebracht und dann sofort von der Heizung entfernt. Nach dem Erkalten schieden sich die Derivate in kristallisierter Form aus. Es wurde festgestellt, daß die sirupähnlichen Produkte stets auftraten, wenn die beiden Aldehyde im Überschuß zugefügt wurden, besonders aber, wenn die Lösungen längere Zeit am Rückflußkühler erhitzt wurden.

In Tab. 1 sind die Zusammensetzungen und die Schmelzpunkte der von uns gewonnenen Carbonylverbindungen von 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid zusammengestellt. Alle Schmelzpunkte wurden mit Hilfe des KOFLERschen Heizmikroskops bestimmt.

Die Schmelzpunkte der 4-p-Bromphenylthiosemicarbazone — mit Ausnahme des Derivates von Diäthylketon und der Derivate einiger aliphatischen Aldehyde — liegen über 100° C, also in einem günstigen Bereich. Besonders hoch sind die Schmelzpunkte der aromatischen Carbonylverbindungen. Bei einigen Derivaten erfolgt das Schmelzen im Intervall von einigen Celsiusgraden, da wegen der hohen Temperaturen in der unmittelbaren Nähe des Schmelzpunktes langsame Zersetzung der Derivate eintritt. Dies gilt z. B. für die Derivate von Furfurol, p-Nitrobenzaldehyd, p-Brombenzaldehyd, p-Dimethylaminobenzaldehyd.

Bei den aliphatischen Aldehyden fällt der Schmelzpunkt — mit Ausnahme des Butyraldehyd-4-p-Bromphenylthiosemicarbazons — vom Acetaldehyd bis zum n-Heptaldehyd ab, steigt dann bis zum n-Decylaldehyd und fällt dann wieder ab. Ähnliche Verhältnisse findet man bei

Tabelle 1

Verwendeter Aldehyd verwendetes Keton	Schmp. (°C) des 4-p-Bromphenylthiosemicarbazons	Brutto-Formel	Stickstoffgehalt	
			Gef. %	Ber. %
Acetaldehyd	153—154	$C_9H_{10}N_3SBr$	15,36	15,44
Propionaldehyd	146	$C_{10}H_{12}N_3SBr$	14,50	14,68
Butyraldehyd	155	$C_{11}H_{14}N_3SBr$	13,76	14,00
iso-Butyraldehyd	141,5	$C_{11}H_{14}N_3SBr$	14,09	14,00
Crotonaldehyd	203	$C_{11}H_{12}N_3SBr$	14,28	14,09
n-Hexaldehyd	95	$C_{13}H_{18}N_3SBr$	12,71	12,80
n-Heptaldehyd	88,5	$C_{14}H_{20}N_3SBr$	12,35	12,28
n-Octaldehyd	112,5	$C_{15}H_{22}N_3SBr$	11,86	11,79
n-Nonaldehyd	114	$C_{16}H_{24}N_3SBr$	11,32	11,35
n-Decylaldehyd	116,5	$C_{17}H_{26}N_3SBr$	11,07	10,93
n-Undecylaldehyd	87,5	$C_{18}H_{28}N_3SBr$	11,60	10,55
n-Undecylenaldehyd	90	$C_{18}H_{26}N_3SBr$	11,61	11,60
n-Dodecylaldehyd	96	$C_{19}H_{30}N_3SBr$	10,23	10,19
Benzaldehyd	212	$C_{14}H_{12}N_3SBr$	12,40	12,57
Anisaldehyd	195—197	$C_{15}H_{14}ON_3SBr$	11,63	11,54
Vanillin	196	$C_{15}H_{14}O_2N_3SBr$	11,21	11,05
Piperonal	211	$C_{15}H_{12}O_2N_3SBr$	11,10	11,11
Zimtaldehyd	195a)	$C_{16}H_{14}N_3SBr$	11,60	11,66
Salicylaldehyd	176	$C_{14}H_{12}ON_3SBr$	11,89	12,00
m-Oxybenzaldehyd	210	$C_{14}H_{12}ON_3SBr$	12,07	12,00
p-Oxybenzaldehyd	211	$C_{14}H_{12}ON_3SBr$	11,92	12,00
p-Acetylaminobenzaldehyd	215a)	$C_{16}H_{15}ON_4SBr$	14,12	14,32
p-Dimethylaminobenzaldehyd	208—9b)	$C_{16}H_{17}N_4SBr$	14,91	14,85
o-Chlorbenzaldehyd	195—6	$C_{14}H_{11}N_3SClBr$	11,61	11,40
m-Chlorbenzaldehyd	215	$C_{14}H_{11}N_3SClBr$	11,44	11,40
p-Chlorbenzaldehyd	192—3	$C_{14}H_{11}N_3SClBr$	11,57	11,40
p-Brombenzaldehyd	202—4	$C_{14}H_{11}N_3SBr_2$	9,96	10,17
o-Nitrobenzaldehyd	208a)	$C_{14}H_{11}O_2N_4SBr$	14,60	14,77
m-Nitrobenzaldehyd	214—5a)	$C_{14}H_{11}O_2N_4SBr$	14,68	14,77
p-Nitrobenzaldehyd	228—230a)	$C_{14}H_{11}O_2N_4SBr$	14,65	14,77
2-Oxy-1-naphthaldehyd	197a)	$C_{18}H_{14}ON_3SBr$	10,27	10,50
1-Oxy-4-naphthaldehyd	201—202	$C_{18}H_{14}ON_3SBr$	10,43	10,50
Furfurol	185—8c)	$C_{12}H_{10}ON_3SBr$	12,86	12,96
Aceton	152—3	$C_{10}H_{12}N_3SBr$	14,51	14,68
Äthylmethylketon	136,5	$C_{11}H_{14}N_3SBr$	13,87	14,00
Diäthylketon	85,5	$C_{12}H_{16}N_3SBr$	13,35	13,37
Methylhexylketon	122	$C_{15}H_{22}N_3SBr$	11,62	11,79
Diacetyl	193d)	$C_{11}H_{12}ON_3SBr$	13,44	13,37
Cyclopentanon	190	$C_{12}H_{14}N_3SBr$	13,50	13,46
Cyclohexanon	137	$C_{13}H_{16}N_3SBr$	12,87	12,88
Cycloheptanon	120	$C_{14}H_{18}N_3SBr$	12,58	12,35
Acetophenon	164—66	$C_{15}H_{14}N_3SBr$	12,17	12,07
Benzalaceton	173—4	$C_{17}H_{16}N_3SBr$	11,30	11,23
p-Chloracetophenon	174	$C_{15}H_{13}N_3SClBr$	10,89	10,98

a) Umkristallisiert aus Äthylalkohol unter Zusatz von kleinen Mengen Dioxan; b) langsame Zersetzung beginnt schon bei 205° C; c) langsame Zersetzung in diesem Temperaturbereiche; d) liegt als Monoderivat vor.

vielen Derivaten dieser Aldehyde (z. B. bei den Semicarbazonen[2,4] und 2,4-Dinitrophenylhydrazonen[2,4]). Zum Unterschied von den hier untersuchten 4-p-Bromphenylthiosemicarbazonen haben einige andere Derivate den Nachteil, untereinander gleiche Schmelzpunkte zu besitzen (z. B. schmelzen die 2,4-Dinitrophenylhydrazone des Hexaldehyds, Decylaldehyds und Undecylaldehyds sämtlich bei 104° C).

Wenn in einer homologen Reihe die Anzahl der Kohlenstoffatome wächst, ist das Problem der Unterscheidung einer gewissen Carbonylverbindung von ihren homologen Verbindungen nach den bisherigen Methoden immer mehr erschwert. Das gilt besonders, wenn Carbonylverbindungen mit nahe beieinander liegenden Siedepunkten oder Schmelzpunkten vorhanden sind. 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid ist den üblichen Reagentien überlegen, da zwischen homologen Aldehyden der aliphatischen Reihe genügend große Differenzen in den Schmelzpunkten bestehen, um die Aldehyde leicht zu charakterisieren. Auch für die Unterscheidung zwischen den isomeren Carbonylverbindungen liegen hinreichend große Unterschiede in den Schmelzpunkten vor (vgl. z. B. Butyr- und iso-Butyr-aldehyd, ferner Oxy-, Chlor- und Nitro-benzaldehyde). Der sehr wünschenswerte Vergleich weiterer isomerer aliphatischer Aldehyde konnte von uns leider nicht durchgeführt werden, da uns die erforderlichen Substanzen nicht zur Verfügung standen.

Furfurol-4-p-Bromphenylthiosemicarbazon schmilzt bei derselben Temperatur wie das Reagens selbst, jedoch ist eine Verwechslung schon wegen des sehr verschiedenen Aussehens der Kristalle kaum möglich: das Reagens selbst kristallisiert in farblosen Nadeln und das Derivat in feinen goldgelben Nadeln.

4-p-Bromphenylthiosemicarbazid ist als Reagens zur Charakterisierung von Aldehyden und Ketonen auch den bisher beschriebenen Reagentien 4-Phenyl- und 4-p-Tolyl-thiosemicarbazid überlegen, da 4-p-Bromphenylthiosemicarbazid schnell mit Carbonylverbindungen reagiert und gut kristallisierende Derivate gibt, welche ziemlich schwer löslich sind. Überlegen ist das Reagens auch dem Semicarbazid, besonders deswegen, weil die Schmelzpunkte der Semicarbazone der unsubstituierten aliphatischen Aldehyde von C_2—C_{12} oft zu nahe liegen, um sichere Identifikation zu gewähren[9]. Dasselbe gilt auch für die 2,4-Dinitrophenylhydrazone[9].

Bei denjenigen Derivaten, die nahe beieinander liegende Schmelzpunkte besitzen (im Falle einiger aromatischer Aldehyde), kann man mit Vorteil die Ultrarotspektren zur Unterscheidung verwenden, wie schon im Falle der 4-Phenylthiosemicarbazone gezeigt wurde[6]. Die Ultrarotspektren werden an einer anderen Stelle besprochen.

Literatur

[1] Bost, R. W., and W. F. Smith: J. Amer. chem. Soc. **53**, 652 (1931). — [2] Cheronis, N. D., and J. B. Entrikin: Semimicro qualitative organic analysis, Th. Y. Crowell Co., New York 1947, S. 394. — [3] Guha, P. C., and H. P. Ray: J. Amer. chem. Soc. **47**, 385 (1925). — [4] Organic Reagents for organic Analysis, Hopkin & Williams Ltd., 1950, S. 163. — [5] Pulvermacher, G.: Ber. dtsch. chem. Ges. **26**, 2812 (1893). — [6] Tišler, M.: diese Z. **149**, 164 (1956). — [7] Tišler, M.: diese Z. **150**, 345 (1956). — [8] Vogel, A. I.: A Text-book of practical organic chemistry, Longmans, Green & Co., 1948, S. 616. — [9] Wild, F.: Characterisation of organic compounds, Cambridge University Press, 1948, S. 113, 121.

Dr. Ing. M. Tišler, Institut für organische Chemie der Universität Ljubljana, Murnikova 3 (Jugoslawien)

Aus der Bundesanstalt für Lebensmitteluntersuchung in Wien
(Direktor: Doz. Dr. Richard Müller)

Beiträge zum Nachweis von Monobromessigsäure

Von
Hans Pfudl

(Eingegangen am 24. März 1956)

Die Verwendung von bromhaltigen Konservantien, insbesondere von Monobromessigsäure und deren Derivaten bei Fruchtsäften, Marmeladen und verwandten Erzeugnissen, Bier, Milch und sonstigen Lebensmitteln hat in vielen Ländern den Wunsch erstehen lassen, diese Konservantien eindeutig nachzuweisen. Oft wird auf die Anwesenheit von Monobromessigsäure allein schon aus dem Bromnachweis, aus einer gärhemmenden Wirkung oder aus einem Chromatogramm geschlossen. Die beiden ersten Verfahren sind nicht spezifisch, das letzte ist bei Anwesenheit von Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure oder Chloressigsäure schwierig. Es ergab sich daher die Notwendigkeit, ein Verfahren auszuarbeiten, welches geeignet ist, die Identifizierung der Monobromessigsäure und ihrer Derivate eindeutig zu ermöglichen.

Nach Fellenberg können organische, ätherlösliche Bromverbindungen besonders in Citrussäften von Natur aus möglicherweise schon vorhanden sein bzw. durch Spritzmittel in diese gelangen. Im Rahmen der Untersuchungen mit nachstehend angegebenem Verfahren konnte nachgewiesen werden, daß das in den Citrusfrüchten vorkommende organisch gebundene Brom mit einem Monobromessigsäurederivat nicht identisch ist. In Ausdehnung der Untersuchungen zum Nachweis organisch gebundenen Broms auf Äpfel, Birnen, Himbeeren, Brombeeren, Ribisel (Johannisbeere), Heidelbeeren, Kirschen, Weichseln und Holunder konnte in deren Fruchtsaft keine organische Bromverbindung

festgestellt werden, obwohl die Säfte aus den verschiedensten Gebieten stammten und man annehmen könnte, durch einen etwaigen Bromgehalt des Bodens könnte das Brom aufgenommen worden sein.

Im Zuge der Untersuchungen von Fruchtsäften, Marmeladen und verwandten Erzeugnissen, Bier und Milch auf ihren Gehalt an monobromessigsäurehaltigen Konservantien wurden 92 Fruchtsäfte, 28 Marmeladeproben, 28 Milchproben sowie 93 Biere von 16 verschiedenen Brauereien untersucht. In 6 Fällen konnte die Verwendung von Monobromessigsäure bzw. ihrer Ester einwandfrei nachgewiesen werden. Der Zusatz dieses Konservanses wurde durch Betriebsüberprüfung bestätigt. Zur weiteren Erhärtung der Arbeitsmethode wurden Fruchtsäfte mit Monobromessigsäure in einer Menge von 0,25 mg/l bis 5,0 mg/l versetzt und einer Untersuchung unterworfen. Der Zusatz konnte einwandfrei nachgewiesen werden.

Bevor man das nachstehend angeführte Verfahren zum Nachweis der Monobromessigsäure anwendet, überzeugt man sich zuerst nach dem Verfahren von Th. von Fellenberg, ob in der zu untersuchenden Probe organisch gebundene, ätherlösliche Bromverbindungen anwesend sind.

Arbeitsvorschrift

Isolierung der etwa vorhandenen Monobromessigsäure aus dem Fruchtsaft

100 ml (bei sehr geringen Gehalten an Monobromessigsäure 200 ml) Fruchtsaft usw. werden in einem 250 ml- bzw. 300 ml-Meßkolben mit Natronlauge alkalisch gemacht und über Nacht zur Verseifung allenfalls vorhandener Ester der Monobromessigsäure stehengelassen. Der Fruchtsaft wird dann nach Carrez gefällt und auf 250 bzw. 300 ml aufgefüllt. Man filtriert, säuert das Filtrat mit verdünnter Schwefelsäure an und schüttelt einmal mit 150 ml und zweimal mit je 100 ml Äther aus. Die Carrez-Fällung ist meistens erforderlich, um Emulsionsbildungen zu vermeiden; manchmal ist es auch möglich, den Fruchtsaft ohne Fällung direkt mit der 1- bis $1\frac{1}{2}$fachen Menge Äther auszuschütteln. Die vereinigten Ätherauszüge werden zweimal mit einigen Millilitern Wasser gewaschen und in einem Erlenmeyer-Kolben mit eingeschliffenem Stopfen über Nacht mit wasserfreiem Natriumsulfat stehengelassen. Dann wird der Ätherauszug in einen Rundkolben übergeführt und der Äther in einer Glasschliffapparatur bei 45—50° C abdestilliert. Den Rückstand nimmt man in je $\frac{1}{2}$ ml Alkohol und Wasser auf und verwendet ihn als Ausgangslösung für die Papierchromatographie.

Papierchromatographischer Nachweis der Monobromessigsäure

Zum papierchromatographischen Nachweis der Monobromessigsäure werden die Papiere 2043a und 2043b der Firma Sch. & Sch. verwendet. Bei geringen Substanzmengen eignet sich besonders das Papier 2043a mit einem Quadratmetergewicht von 90 g. Sind größere Substanzmengen vorhanden, wählt man die im Naßzustand reißfestere Papiersorte 2043b, welche ein Quadratmetergewicht von 120 g hat. Es wird die aufsteigende Arbeitsmethode angewendet, bei welcher im Vergleich zur absteigenden Methode schärfere Trenneffekte erzielt werden. Ohne Vorbehandlung der Papiere ist ein zufriedenstellendes Ergebnis nicht gewährleistet. Am besten eignet sich ein Papier, welches eine Stunde mit 1%iger Oxalsäurelösung vorbehandelt wurde. Die Oxalsäure muß vollständig aus dem Papier ausgewaschen

werden, da sie sonst im Chromatogramm unliebsame Flecken hervorruft. Man läßt das Papier über Nacht im destillierten Wasser liegen und wechselt am Tage noch einige Male das Wasser. Dann wird das Papier bei 80° C getrocknet. Um das Papier von allen jenen Substanzen zu reinigen, welche später störende Flecken liefern könnten, wird durch das Papier das Lösungsmittel, welches später bei der Chromatographie verwendet wird, durchlaufen gelassen. Nach dem nochmaligen Trocknen bei 80° C ist das Papier für die Chromatographie der Monobromessigsäure vorbereitet. Nun wird mit Bleistift 2—3 cm vom Rande des Papierbogens oder Streifens eine waagrechte Linie, die „Startlinie" gezogen. Darauf werden im Abstand von 3 cm voneinander die sogenannten „Startpunkte" markiert. Der Abstand des ersten bzw. letzten Startpunktes vom Papierrand soll 5—6 cm betragen. Große Bedeutung kommt der richtigen Aufbringung sowie der Menge der Substanz zu. Bei der Aufbringung der Substanz ist streng darauf zu achten, daß eine Substanzmenge von 50 μg nicht überschritten wird. Bei höheren Substanzmengen ist die polare Phase nicht mehr in der Lage alles zu lösen; es kann sich also nicht das Verteilungsgleichgewicht einstellen. Die hinter dem Startpunkt auftretende Schwanzbildung und zu große, zum Teil ineinander übergehende Flecken sind die unliebsamen Folgeerscheinungen, unter welchen natürlich die Trennschärfe sehr leidet. Die untere Grenze der Substanzmenge ist durch die Nachweisgrenze gegeben. Eine eindeutige Reaktion beim Besprühen mit der Indicatorlösung wird noch durch 3 bis 5 μg erreicht. Ebenso ist darauf zu achten, daß der Durchmesser der Flecken nicht größer als etwa 1,2 cm wird und daß die Konzentrationsverteilung auf dem Startflecken einheitlich ist, d. h. nicht im peripheren Bereich zu groß wird. Die Aufbringung der Substanz erfolgt unter Zuhilfenahme einer Mikropipette mit Mikrolitereinteilung. Man spannt das Papier waagrecht ein und trocknet die aufgetragenen Substanzflecken zweckmäßig mit einer Ultrarotlampe. Die gefüllte Pipette wird etwas schräg auf das Papier gehalten, worauf die Lösung aus der Capillare der Pipette herausgesaugt und das Lösungsmittel durch die Ultrarotlampe weggetrocknet wird. Nun wird das zu einem Zylindermantel zusammengerollte Papier zur Entwicklung in eine Glaszylinderapparatur gegeben. Um beim Chromatogramm die R_f-Werte in möglichst gut reproduzierbarer Form zu erhalten, sind die Einhaltung einer konstanten Temperatur (18—20° C) sowie die Sättigung der Atmosphäre und des Papieres mit dem Lösungsmitteldampf unbedingt erforderlich. Zur Entwicklung des Chromatogrammes verwendet man ein Gemisch von 100 ml Alkohol, 7 ml Ammoniak (p. a.) und 18 ml Wasser. Nach Sättigung der Atmosphäre durch das am Boden der Apparatur in einer Schale befindliche Lösungsmittel läßt man das Chromatogramm laufen. Man beendet die Operation, wenn die Lösungsmittelfront etwa 5 cm vom oberen Papierrand entfernt ist. Dann wird das Papier aus der Apparatur herausgenommen und mit Bleistift die Lage der Lösungsmittelfront markiert. Anschließend wird das Papier 5 min bei 80° C, dann 30 min bei 150° C getrocknet. Man erreicht dadurch, daß die Ammoniumsalze zersetzt werden und die freien Säuren am Papier zurückbleiben. Zur Identifizierung der Säuren wird das Papier mit der Indicatorlösung besprüht. Als Indicatorlösung verwendet man eine 0,04%ige Bromphenolblaulösung in 95%igem Alkohol. Der Indicator wird mittels einiger Tropfen 0,01 n Natronlauge schwach alkalisch eingestellt. Nach dem Besprühen wird das Papier 5 min bei 80° C getrocknet. Die Säuren sind dann als gut begrenzte gelbe Flecken auf hellblauem Untergrund sichtbar. Der R_f-Wert der Monobromessigsäure beträgt 0,55.

Nachweis des Broms in dem als Monobromessigsäure gewanderten Flecken

Beim papierchromatographischen Nachweis der Monobromessigsäure ergeben sich bei Lebensmitteln, welche Ameisensäure, Essigsäure,

Milchsäure oder Chloressigsäure enthalten, oft beträchtliche Schwierigkeiten. Da die R_f-Werte dieser Säuren sehr nahe beisammenliegen, ist eine exakte eindeutige Differenzierung oft nur sehr schwer oder überhaupt nicht möglich. Im Rahmen der Arbeiten über den Nachweis monobromessigsäurehaltiger Konservantien ergab sich daher die Notwendigkeit, eine Methode zur Unterscheidung der Monobromessigsäure von anderen Säuren mit ähnlichen R_f-Werten zu entwickeln, welche an Hand des R_f-Wertes *und* des Bromgehaltes der Monobromessigsäure diese nachzuweisen gestattet.

Zu dem im folgenden beschriebenen Verfahren wird wie oben das vorbehandelte Papier Sch. & Sch. Nr. 2043a und 2043b verwendet. Nachdem man die Startlinie markiert hat, zieht man ungefähr in der Mitte des Papieres senkrecht zur Startlinie einen Bleistiftstrich und teilt so das Papier in 2 Teile. Auf der linken Seite des Papieres trägt man auf der Startlinie die Probe sowie 2 Testflecken mit Monobromessigsäure auf; einmal Monobromessigsäure allein und einmal in einer Testmischung mit anderen organischen in der Probe vorkommenden Säuren, welche in weit höherer Konzentration als die Monobromessigsäure vorliegen sollen. Sind nämlich im Vergleich zur Monobromessigsäure größere Mengen an anderen organischen Säuren (z. B. Äpfelsäure, Weinsäure usw.) vorhanden, so wird die Monobromessigsäure in ihrer Laufgeschwindigkeit etwas gebremst, d. h. ihr R_f-Wert wird kleiner. Auf der rechten Seite des Papieres trägt man auf der Startlinie nur die Probe auf. Oft bewährt es sich, die Probe nicht nur als Punkt, sondern als einen etwa 2—5 cm langen Strich aufzutragen. Man kann so eine größere Substanzmenge aufbringen, was bei geringen Gehalten an Monobromessigsäure vorteilhaft ist. Nun läßt man das Chromatogramm laufen (siehe oben) und beendet die Bestimmung wieder, wenn die Lösungsmittelfront 5 cm vom oberen Papierrand entfernt ist. Anschließend wird wieder 5 min bei 80° C getrocknet und das Papier längs des früher senkrecht zur Startlinie gezogenen Bleistiftstriches auseinandergeschnitten. Auf der linken Hälfte werden, wie bereits beschrieben, die Säureflecken sichtbar gemacht. Dann legt man die beiden Papierhälften mit der Schnittfläche wieder aneinander und schneidet am rechten unbesprühten Papier das Quadrat oder das Rechteck aus, in welchem man die Monobromessigsäure an Hand des am linken Chromatogramm sichtbaren Fleckes vermutet. Dieses Papierstückchen wird klein zerschnitten und mit Glaskugeln gegen Siedeverzug in einen 100 ml Schliffkolben gegeben. Dann fügt man 2 ml alkoholische n Kalilauge zu und verseift bei aufgesetztem Kühlrohr 30 min über einem Mikrobrenner. Zu beachten ist dabei, daß die Flüssigkeit manchmal durch das Anliegen der Papierstückchen an der Glaswand stark stößt. Die Flüssigkeit wird nun in einen Platintiegel oder in eine kleine Platinschale gegossen, der Kolben einige Male gespült und dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbad eingedampft. Der Rückstand wird verascht und die Asche nach der Methode von Th. von Fellenberg auf Brom geprüft. Weist die im Chromatogramm gewanderte Säure den gleichen R_f-Wert wie Monobromessigsäure auf und ist außerdem im gewanderten Fleck Brom enthalten, so besteht kein Zweifel, daß in der untersuchten Probe Monobromessigsäure vorhanden ist.

Zusammenfassung

Durch die Verwendung bromessigsäurehaltiger Konservantien in Lebensmitteln ergab sich die Notwendigkeit, eine Methode zur Identifizierung dieser Säure zu entwickeln. Die Bestimmungsmethode gliedert sich in 2 Teile.

1. Isolierung der allenfalls vorhandenen Monobromessigsäure aus dem Lebensmittel durch Verseifung und Ausschüttelung mit Äther sowie die Vorbereitung für die papierchromatographische Untersuchung;

2. Papierchromatographischer Nachweis der Monobromessigsäure durch Ermittlung des R_f-Wertes *und* durch den Bromnachweis in dem als Monobromessigsäure gewanderten Flecken.

Zur Erhärtung der Bestimmungsmethode wurden Fruchtsäfte mit Monobromessigsäure in einer Menge von 0,25 mg/l bis 5,0 mg/l versetzt. Der Zusatz konnte einwandfrei nachgewiesen werden. Es wurden 241 Lebensmittelproben verschiedenster Herkunft hinsichtlich ihres Gehaltes an Monobromessigsäure untersucht; in 6 Fällen wurde der Zusatz nachgewiesen.

Literatur

Cramer, Fr.: Papierchromatographie. — von Fellenberg, Th.: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **42**, 72 (1951).

Dipl. Ing. Hans Pfudl, Bundesanstalt für Lebensmitteluntersuchung, Wien IX/71, Kinderspitalgasse 15

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Spektralanalyse. Nach einer kritischen Übersicht der Verfahren zur spektrochemischen Analyse von Lösungen beschreiben Á. Bardócz und F. Varsányi[1] ein neues Verfahren, bei dem *rotierende Stabelektroden* verwendet werden. Ein Kohlestab oder mehrere kurze Kohlenstäbe sind auf einer langsam rotierenden Achse speichenartig befestigt, ihre Enden berühren die Analysenlösung während der Umdrehung, gelangen dann in Stellung der Gegenelektroden gegenüber, wo die Entladung erfolgt. Die Einrichtung ist ausführlich beschrieben und abgebildet, ebenso die beste Ausbildung der Elektrodenenden, wie auch die Schaltung des elektronisch gesteuerten Anregungsgerätes zur Erzeugung der Abreißbogen- und Niederspannungsfunken-Entladung. Zur Prüfung der Methode wurden Ni, Ag, Cd, Cu und Bi enthaltende Bleigrundlösungen sowie Pt-Rh-Lösungen untersucht. Die Spannung der Abreißbögen betrug 220 V, die Stromstärke 4,2 A, die Spannung der Funkenentladung 1000 V. Bei den Pt-Rh-Lösungen betrug der durchschnittliche Fehler $\pm$ 1,45%, die maximale Abweichung vom Mittelwert — 3,4%. Die Bleilösungen konnten mit einem durchschnittlichen Fehler von $\pm$ 1,53% analysiert werden, dabei war die maximale Abweichung vom Mittelwert 3,3 %. J. Plank

Über Versuche zur *Spektralanalyse pulverförmiger Stoffe unter Einführung der Pulver durch einen Luftstrom in die Entladungszone* berichten A. K. Rusanov und T. I. Tarasova[2]. Die gesiebten Pulverteilchen (200 Maschen) werden durch einen

[1] Acta chim. Acad. Sci. hung. (Budapest) **7**, 1—26 (1955). (Mit dtsch. Zus. fass.) Akad. Wiss., Budapest.

[2] Ž. anal. Chim. **10**, 267—275 (1955) [Russisch]. Inst. Mineralrohst., Moskau.

Trichter mit Tubus von 6 mm Durchmesser und einem Netzabschluß mit Öffnungen von 0,2—0,3 mm, direkt in den Flammenbogen eingeschüttet, der zwischen Kupferelektroden (4 mm Abstand) entsteht. Zur Erreichung einer gleichmäßigen Temperatur werden 10% NaCl den Proben beigemischt. Die Gleichmäßigkeit des Durchschüttens wird durch eine Schüttelvorrichtung (12 mal je Sekunde) gesteigert; es muß genügend Pulver aufgeschüttet werden und das Durchschütten darf nicht zu lange dauern (Entmischung). Steigerung der Geschwindigkeit des Durchschüttens steigert die Intensität der Linien, die bei dieser Art der Zuführung 50—100 mal stärker ist als bei Verdampfung von den Elektrodenenden. Die Schwärzungen werden zwar direkt gemessen, aber berechnet wird das Schwärzungsverhältnis, um Ungleichmäßigkeiten der Verdampfungsgeschwindigkeit möglichst auszuschließen. Zu diesem Zweck wurde beispielsweise 1% Sb_2O_3 zugemischt (als Vergleichselement), als es um die Reproduzierbarkeit von Kassiteritanalysen ging. Die Pulver wurden 40 sec mit einer Geschwindigkeit von 0,015 g/sec in den Sventitzki-Bogen (10 A, 220 V) eingeführt und im Quarzspektrographen ISP-22 aufgenommen. Bei Berücksichtigung aller Vorsichtsmaßregeln wurde eine Reproduzierbarkeit von $\pm$ 3% erreicht. Sie ist um das 2—2½fache höher als bei der üblichen Verdampfung (aus den Kanälen der Kohleelektroden). A. v. Wilpert

Ein spektrochemisches Verfahren allgemeiner Anwendbarkeit glaubt E. K. Jaycox[1] gefunden zu haben, wenn er alle Analysenmaterialien pulverisiert und mit Graphitpulver, sowie mit Puffermaterialien versetzt. Hierfür haben sich besonders Kupferoxyd oder Bleisulfat bewährt, die keramischen und anderen nichtmetallischen Analysenmaterialien beigemengt werden. In jedem Fall wird als zusätzlicher Puffer Germaniumdioxyd beigefügt, welches grundsätzlich als Verdünnungsmittel betrachtet wird, und dessen Menge sich nach der Konzentration der nachzuweisenden Elemente richtet. Es hat die besondere Aufgabe, alle Störungen der Analyse durch Wechselwirkung der Analysenpartner zu beseitigen. Im einzelnen können unter Verwendung von Kupfer als Bezugselement folgende Elemente quantitativ bestimmt werden: *Al, Sb, As, Ba, Bi, B, Cd, Ca, Cr, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Na, Si, Sn, Ti, Zn und Zr*. Die Anregung erfolgt im Gleichstrombogen bei 250 V und einem Anfangsstrom vom 10 A. Die mittlere prozentuale Abweichung der Bestimmungen liegt zwischen $\pm$ 5,4 und 14%.

Eine besonders interessante Untersuchung über die *Ergebnisse von Intensitätsbestimmungen mit der s. p. d.-Skala* legen J. A. M. Dikhoff und N. W. H. Addink[2] vor. Eine s. p. d.-Skala ist ein Streifen weißen Papiers, auf dem sich eine Reihe Linien mit zunehmender Schwärzung befinden. Auf die Skala wird die zu messende Spektrallinie projiziert, und die Skala so lange verschoben, bis die projizierte Linie und eine schwärzungsgleiche Skalenlinie nebeneinander liegen. An einer Numerierung der Skala kann die Schwärzung der Spektrallinie abgelesen werden. Dieses Verfahren arbeitet nach den Untersuchungen der Verff. auch dann richtig, wenn die Spektrallinie einem Untergrund überlagert ist, der gleichzeitig mit der Linie auf die Skala projiziert wird. Dies wird an Hand einiger einfacher Überlegungen gezeigt, die die Erfahrung bestätigen. Die Genauigkeit des Verfahrens kann noch durch Verwendung einer Skala gesteigert werden, die bereits auf Linien mit einem gewissen Untergrund geeicht wurde. Auch auf den Einfluß von Intensität und Farbe des Lichts im Spektrenprojektor und der umgebenden Raumbeleuchtung wird eingegangen.

[1] Analyt. Chemistry **27**, 347—350 (1955). Bell Telephone Labs., Inc., Murray Hill, N. J. (USA).

[2] Mikrochim. acta (Wien) **1955**, 257—264. N. V. Philips Gloeilampenfabrieken, Eindhoven (Niederlande).

Schließlich wird gezeigt, daß die Meßgenauigkeit mit der s. p. d.-Skala noch gesteigert werden kann, wenn die auf ihr angebrachten Skalenlinien nicht ein rechteck- sondern ein spektrallinienähnliches Schwärzungsprofil haben.

N. Haigh[1] berichtet über *die spektrochemische Bestimmung von Magnesium und Beryllium in Aluminiumlegierungen unter Verwendung einer rotierenden Scheibenelektrode.* Das Analysenverfahren entspricht im wesentlichen der von Pierucci und Barbanti-Silva angegebenen Methode, die sich schon bei zahlreichen anderen Aufgaben bewährt hat[2]. Ein an horizontaler Achse rotierendes Graphitscheibchen taucht mit seiner Unterseite in eine Lösung des Analysenmaterials. Vertikal über dem als untere Elektrode dienenden Scheibchen steht ein Graphitstift als obere Elektrode. Beide zusammen bilden die Entladungsstrecke, in die durch das rotierende Scheibchen ständig neues Analysenmaterial gebracht wird. Zur Anregung dient eine ungesteuerte Funkenentladung von 15000 V bei 0,06 mHy und 0,005 μF. Die Spektren werden mit dem Hilger Medium-Quarz-Spektrographen aufgenommen. Für die Mg-Bestimmung zwischen 0,001 und 0,04% dient als Analysenlinienpaar Mg 2852:Al 3050 ÅE; für die Be-Bestimmung zwischen 0,001 und 0,035% dient das Linienpaar Be 3130:Al 2660 ÅE und zwischen 0,03 und 0,5% das Linienpaar Be 2651:Al 2652 ÅE. Die zu analysierende Al-Legierung wird in salzsaurer Lösung untersucht. Die Auswertung erfolgt in üblicher Weise durch Eichkurven, die mit Hilfe synthetisch hergestellter Standardlösungen aufgestellt werden.

E. C. Mills und S. E. Hermon[3] berichten über den *Einfluß einiger Probenformen auf die Reproduzierbarkeit der spektrographischen Analyse bei bestimmten Magnesiumlegierungen unter Verwendung von stiftförmigen Elektroden und einem einfachen Anregungsgerät.* Sie gehen hierbei besonders auf die heterogene Zusammensetzung von Gußproben ein, aus denen verschiedene Elektrodenformen herausgedreht, bzw. unmittelbar durch die Gußform erhalten werden. Naturgemäß ergeben sich hier starke Unterschiede durch Seigerungserscheinungen, die selbstverständlich einen starken Einfluß auf das Ergebnis der Analyse haben. Von diesen Erscheinungen müssen die Effekte unterschieden werden, die über die Elektrodenform den Funkenübergang und damit das Analysenergebnis beeinflussen. Es sind dies also zwei völlig verschiedene Ursachen für Analysenfehler, deren Unterschiede in der Arbeit schärfer hätten gefaßt werden dürfen. Es zeigt sich, daß Mangan, Kupfer und Silicium relativ unempfindlich gegen Einflüsse beider Art durch die Elektrodenform sind, während sich Zink und Aluminium als sehr anfällig erweisen. Die Ergebnisse werden für die verschiedenen Elektrodenformen und Elemente in Tabellen wiedergegeben. Es zeigt sich, daß Gußstäbchen für die spektrographische Analyse von Aluminium in Magnesium unzweckmäßig sind. Auch das Herausdrehen von Stäbchen mit kleinerem Durchmesser aus dickeren Gußproben ist ungeeignet. Als beste Elektrodenform empfehlen die Verff. die Verwendung von horizontal liegenden Gußscheibchen.

In einer *Notiz über die Kontrolle der Lichtemission bei der spektrographischen Analyse von Aluminiumlegierungen* berichten die gleichen Verff.[4] über Versuche, die

[1] Metallurgia (Manchester) **52**, 154—156 (1955). Aluminium Labs. Ltd.. Banbury (England).

[2] Siehe u. a. die Arbeiten von A. G. Gassmann u. Mitarb.; T. J. Hugo; J. P. Pagliassotti u. Mitarb.; C. M. Gambrill u. Mitarb.; V. W. Meloche u. Mitarb.; vgl. diese Z. **132**, 118 (1951); **133**, 366 (1951); **136**, 351 (1952); **137**, 361 (1952); **144**, 206 (1955).

[3] Metallurgia (Manchester) **52**, 210—212 (1955). High Duty Alloys, Ltd., Slough.

[4] Mills, E. C., und S. E. Hermon: Metallurgia (Manchester) **52**, 212 (1955).

Analysengenauigkeit dadurch zu verbessern, daß die Helligkeit der Analysenlichtquelle über eine Photozelle zur elektronischen Steuerung der Funkenerzeuger verwendet wird. Die Reproduzierbarkeit in der Dichte der Aluminium-Analysenlinie kann dadurch zwar um etwa 50% verbessert werden, die gesamte Analysengenauigkeit wird aber nur um 10—20% verbessert. Die Verff. führen das darauf zurück, daß die Proben selbst einen wesentlichen Beitrag zu der Fehlergrenze spektrographischer Analysen liefern.

W. J. Price[1] gibt einen Bericht über seine Erfahrungen bei der *Bestimmung von Spurenelementen in Magnesium und dessen Legierungen durch spektrographische Verfahren.* Er berichtet unter anderem über folgende Anregungsmethoden: Abreißbogen für feste Proben, Hochspannungsfunken für feste Proben und Hochspannungsfunken für Lösungen. Bei den Metallelektroden wird unterschieden zwischen dem „point to plane"-Verfahren, bei dem eine ebene Oberfläche des Analysenmaterials mit einem Graphitstift als Gegenelektrode verfunkt wird, und der Anwendung von Selbstelektroden, wo Stäbchen von 6 mm ∅ aus Analysenmaterial unmittelbar verfunkt werden. Lösungen untersucht Verf. in der porösen Elektrode nach C. Feldman[2]. Er geht dann auf einzelne Aufgaben ein und behandelt die Bestimmung von Bor, Barium, Beryllium, Calcium, Lithium, Seltenen Erden und anderen Elementen. Bei der Bariumbestimmung ist bemerkenswert, daß sie in Lösung im Sauerstoffstrom erfolgt, um die Störung der Bariumlinie 4554,0 Å durch die Cyanbande 4553,1 Å zu vermeiden. Im übrigen geht Verf. noch auf die Bestimmung von Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Si, Ag, Sn, Ti, Zn und Zr ein und gibt Analysenlinienpaare für ihre quantitative Bestimmung in Magnesium an. Zur Auswertung dienen die bekannten Verfahren.

G. Gorbach[3] weist auf *die Bedeutung der Mikrochemie für die Spektralanalyse* hin, und zwar sind nicht nur die Emissions- sondern auch die Absorptionsspektralanalyse auf mikrochemische Arbeitsmethoden zur Erhöhung ihrer Empfindlichkeit angewiesen. Der Verf. zeigt, wie kleinste Probemengen durch passende Mikropipetten aufgenommen werden können. Eine wesentliche Steigerung der spektralanalytischen Nachweisempfindlichkeit kann durch Verwendung organischer Komplexbildner erreicht werden. Für die Technik des Kohlebogenverfahrens ist eine Heizvorrichtung zweckmäßig, mit der Elektrodenkohlen auf 110° C vorgewärmt werden können, um so ein Versickern der Probesubstanz während des Aufbringens zu verhindern. Für Absorptionsuntersuchungen bei Substanzen geringer Extinktion eignet sich ein neu entwickeltes Capillarphotometer, in dem Probemengen von nur 1 ml bei Schichtdicken von 100 mm untersucht werden können. J. van Calker

Anwendung von Hochfrequenzoscillatoren. D. G. Flom und P. J. Elving[4] haben Hochfrequenzoscillatoren auch zur Untersuchung von Reaktionsgeschwindigkeiten herangezogen und die Verseifungsgeschwindigkeit von aliphatischen Carbonsäureestern und Chloressigsäureestern in alkalischer Lösung gemessen. Es wird die von F. W. Jensen und A. L. Parrack[5] angegebene Anordnung in Huth-Kühn-Schaltung verwendet, die mit einer zusätzlichen Stabilisierung des Oscillators (15—20 MHz) und einem verbesserten Kompensationskreis ausgestattet

[1] Spectrochim. Acta (London) **7**, 118—127 (1955). Magnesium Elektron, Ltd. (England).

[2] Analyt. Chemistry **21**, 1041 (1949); vgl. diese Z. **132**, 357 (1951).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 336—344. Techn. Hochschule Graz (Österreich).

[4] Analyt. Chemistry **25**, 541—549 (1953). Pennsylv. State College, State College, Pa.

[5] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 595 (1946).

ist, und die alle bei der Analyse auftretenden Konzentrationsänderungen durch entsprechende Änderungen des Anodenstroms anzeigt. Im empfindlichsten Bereich entspricht hierbei eine Änderung der NaCl-Konzentration von $6 \cdot 10^{-4}$ Mol/l einer Anzeige von 188 μA, die auf einem Brown-Schreiber mit hoher Einstellgeschwindigkeit (Gesamtausschlag in 1,5 sec) registriert werden kann. Zur Temperierung wird die in die Induktionsspule eingebaute doppelwandige Meßzelle (für 175 ml) zur Steigerung der Anzeigeempfindlichkeit statt mit Wasser mit Tetrachlorkohlenstoff umspült und beheizt, das automatisch mittels Pumpe, Infrarotheizung und Relais in temperaturkonstantem Umlauf gehalten wird. Zur Messung werden 0,04 m wäßrige Esterlösungen in $4 \cdot 10^{-3}$ n Natronlauge verseift, da die Stromanzeige bis zu dieser Natronlaugekonzentration hinauf proportional der Konzentration ist. Als Geschwindigkeitskonstanten werden in guter Übereinstimmung mit der Literatur erhalten: Für Äthylacetat 0,110 $\pm$ 0,010, n-Propylacetat 0,095 $\pm$ 0,006, n-Butylacetat 0,091 $\pm$ 0,008, Äthylpropionat 0,083 $\pm$ 0,002 und für n-Propylpropionat 0,072 $\pm$ 0,004 $l/Mol^{-1}sec^{-1}$. Die Schreibgeschwindigkeit reicht aus, um auch Reaktionen mit Halbwertszeiten von nur wenigen Sekunden zu messen, vorausgesetzt, daß die Durchmischung hinreichend schnell vorgenommen werden kann. So wird die Verseifungsgeschwindigkeit von Methyl- und Äthyl-Chloracetat, von Methyl- und Äthyl-Dichloracetat und von Äthyltrichloracetat in etwa 10^{-3} bis 10^{-5} n Natronlauge bei 20° C zu 23,7 $\pm$ 1,3, 19,0 $\pm$ 1,3, 212 $\pm$ 7, 167 $\pm$ 12 und 2100 $\pm$ 300, die der Monochloracetate bei 30° C zu 51,6 $\pm$ 2,1 und 33,5 $\pm$ 0,9 bestimmt. Die Aktivierungsenergie bei der Verseifung der Chloracetate liegt bei 13,8 bzw. 10,0 kcal. Die Geschwindigkeit der Verseifung aliphatischer Ester sinkt mit der Zahl der C-Atome des Alkohols, sie steigt mit der Zahl der Cl-Atome der Säure. Sämtliche Registrierkurven passen sich vorzüglich dem Verlauf einer Reaktion 2. Ordnung an.

K. Cruse

Polarographie. Zur Ausschaltung der Abhängigkeit eines Polarogramms vom Spannungsabfall in der Meßzelle hat M. M. Nicholson[1] bei Messungen an stationären und an Tropfelektroden die Verwendung eines Kompensationskreises vorgeschlagen, der automatisch arbeitet. Bei Spannungsdurchgang wird durch die Führung der Registrierfeder automatisch ein Helipot-Potentiometer betätigt, das in einem Hilfsstromkreis liegt. Die laufend am Potentiometer abgreifbare und automatisch steigende Kompensationsspannung wird einfach dem Meßkreis in Reihe zugeschaltet. Durch geeignet angeordnete und bemessene Widerstände kann die Kompensation auf positive oder negative Zellströme abgestimmt und passend eingeregelt werden. In der Anwendung der Kompensation bei der polarographischen Oxydation von $5 \cdot 10^{-3}$ m Diäthylsulfid in 0,1 m methanolischer Salzsäure wird gezeigt, daß die Abhängigkeit des Verhältnisses von Diffusionsstrom und Konzentration von der Konzentration eliminiert werden kann.

R. J. Newcombe und W. Boardman[2] berichten über Versuche zur *Prüfung der* Ilcovič-*Gleichung*, in denen an Hand oscilloskopischer Aufnahmen am wachsenden Quecksilbertropfen in 0,1 n Kaliumchloridlösung bei einer Tropfzeit von 1,25 sec (entsprechend 8,5 mg Hg/sec) der Potentialabfall mit der Zeit festgestellt wird. Es wird zwar die Abhängigkeit $i = k \cdot t^n$ bestätigt, doch variiert der Exponent n, da die beobachteten Kurven für die Zeitbereiche 10—150 und 150—1250 msec nur mit verschiedenen Exponenten beschrieben werden können. Die Fehler der Methode betrugen nur 2%.

[1] Analyt. Chemistry **27**, 1364—1365 (1955). Humble Oil & Refining Co., Baytown, Tex. (USA).

[2] Chem. and Ind. **1955**, 1473—1474. Royal Technical College, Salford (England).

D. J. Rosie und W. D. Cooke[1] haben die *Polarographie an der stationären Quecksilber-Großflächenelektrode*[2] verbessert. Wird bei kräftigem Rühren (540 U/min) und bei einem Spannungsdurchlauf von 100 mV/min elektrolysiert, so treten normale Stromspannungskurven auf, die sich zur Analyse sehr verdünnter Lösungen gut eignen, da der Kapazitätsstrom gering bleibt. Es wird in dem früher angegebenen Polarographiergefäß gemessen, bei dem die Belüftung mit Stickstoff durch eine Glasfritte erfolgt, auf der das Quecksilber ruht. Wesentlich ist, daß die Geometrie der Anordnung konstant gehalten wird. Ist der Rührer 6 mm von der Hg-Oberfläche entfernt eingesetzt, dann bedeutet eine Verschiebung des Abstands von 1 mm nur noch 3% Fehler im Diffusionsstrom. Letzterer steigt proportional mit der Rührgeschwindigkeit und ist im übrigen der Konzentration proportional mit einem Fehler, der sich nach dem untersuchten Kation richtet und zwischen 2,7 und 4,5% schwankt. Zu hohe Empfindlichkeiten sind nicht ratsam, da hohe Stromstärken an der 3 cm^2 großen Hg-Oberfläche in 10 min Konzentrationsänderungen von 10—20% nach sich ziehen. Bei geringer Geschwindigkeit der Spannungsänderung sind die Grundströme klein, doch sinkt dann auch der Diffusionsstrom. Es wird über Versuche an Lösungen von Cd, Cu, Pb, Tl, Co, CrO_4^{2-}, Ni, Azobenzol, Benzil und p-Dinitrobenzol berichtet. In mit Isopropanol versetzter (5%) und in der Regel 0,1 m Leitsalzlösung sind die Analysen von 10^{-5} m Lösungen auf 2—3% genau reproduzierbar. Die Halbstufenpotentiale sind den Halbspitzenpotentialen fast gleich und weichen von den üblichen polarographischen Halbstufenpotentialen nur wenig ab. Blei läßt sich nur als Anion analysieren. Ni-Analysen sind unzuverlässig. Die Elektrolysen von $CrO_4^{2-} \rightarrow Cr^{3+}$ und $Co^{3+} \rightarrow Co^{2+}$ verlaufen irreversibel. Aus der Bestimmung des Abfalls des Diffusionsstroms bei konstanter Spannung über eine gemessene Zeit kann bequem die Elektronenzähligkeit einer Reaktion abgeleitet werden.

E. L. Colichman[3] berichtet über *polarographische Untersuchungen in geschmolzenem Ammoniumformiat als Grund-„Lösung"*. Bei 125° C kann noch die Quecksilbertropfelektrode mit $t = 2{,}7$ sec, $m = 3{,}04$ mg Hg/sec, $m^{2/3}t^{1/6} = 2{,}10$ bei 37,5 cm Hg-Säule verwendet werden. Wird gegen die Bodenanode polarographiert, dann weist eine erstaunlich große Zahl anorganischer und auch organischer Metallsalze Diffusionsstromstufen auf, deren Halbstufenpotentiale noch vor dem Zersetzungspotential der Schmelze bei —0,90 V liegen. Zur quantitativen Analyse sind allerdings nicht alle diese Stufen geeignet, da in einer Reihe von Beispielen ein Alterungseffekt feststellbar ist, d. h. da dann Reduktionen durch das Quecksilber vor sich gehen. Wasserfreie Salze sind besonders günstig reduzierbar. Bei Hydraten ist in der Regel das Formiat-Zersetzungspotential kleiner. Das gleiche gilt für Ba-, Sr-, Mg-, Mn- und Zr-Salze. In verschiedenen Fällen scheint die Gegenwart des Bodenquecksilbers für die Beobachtung einer Reduktionsstufe notwendig zu sein. Für in der Schmelze stabile Ionen (Cd), ist i_d/c konstant, d. h. dann sind auch quantitative Analysen möglich, obwohl die Halbstufenpotentiale deutlich von der Konzentration abhängen. Insgesamt über 70 verschiedene Verbindungen sind untersucht worden, darunter besonders U-, Th-, Pu-Salze und typische Spaltprodukte wie Zirkonium und die Seltenen Erden. K. Cruse

[1] Analyt. Chemistry **27**, 1360—1363 (1955). Cornell Univ. Ithaca, N. Y. (USA).

[2] Streuli, C. A., u. W. D. Cooke: Analyt. Chemistry **25**, 1691 (1953); vgl. diese Z. **144**, 195 (1955).

[3] Analyt. Chemistry **27**, 1559—1562 (1955). California Research a. Development Co., Livermore, Calif. (USA).

IV. Spezielle analytische Methoden

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Zur elektrophoretischen Analyse von Drogen liegen Untersuchungen von Y. KINOSHITA und SH. MORIYAMA[1] vor. Da bei dem angewendeten Verfahren das bereits früher beschrieben wurde[2], bei der Elektrolyse mit 1 Milliamp./cm bei 10° C die Wanderweiten der Spannung und der Dauer der Elektrolyse linear proportional sind, kann aus den systematisch in Abhängigkeit vom p_H-Wert gemessenen Wanderweiten für *Barbital*, *Phenobarbital*, *Äthylhexabital*, *Methylhexabital*, *Allobarbital*, *Isomytal* und *Pentobarbital* eindeutig abgelesen werden, daß ihre Mischungen am besten in KOLTHOFF-Pufferlösung (p_H 9,2) oder in SÖRENSEN-Pufferlösung vom p_H 9,6 getrennt werden. Gekennzeichnet wird durch Besprühen mit salpetersaurer Quecksilber(II)-nitratlösung (weiße Flecken auf gelbem Grund). Bis zu 2 μg Barbital, 10 μg Methylhexabital oder 5 μg der übrigen Drogen sind erkennbar.

K. CRUSE

Bei dem Verfahren zur Bestimmung des ätherischen Öles in Drogen, das zur Wertbestimmung der Drogen dient, handelt es sich um eine Konventionsmethode, die nur dann brauchbare Werte liefert, wenn die Versuchsbedingungen in allen Einzelheiten festgelegt werden. Nach einer Untersuchung von I. BAUERMEISTER und U. HAGENSTRÖM[3] sind folgende Punkte zu beachten: Genau festgelegte Grenzen der Höhe der Ölsäule im Auffangrohr. Die Ölschicht soll möglichst niedrig, das Auffangrohr möglichst breit sein. — Die Menge an Destillierflüssigkeit im Verhältnis zur Drogenmenge soll möglichst klein sein. Das Verhältnis muß genau festgelegt sein; dagegen genügen für die Drogeneinwaage und die Menge an Destillationsflüssigkeit ungefähre Angaben. Man verwendet entgegen dem früheren Vorschlag[4] lieber mehrere kleine als eine große Einwaage. — Die Droge soll im Anlieferungszustand untersucht werden; Destillierflüssigkeit ist dest. Wasser, der Apparat soll genau festgelegt sein, möglichst in Anlehnung an den der BP 53. Die Destillierdauer soll bis 4 Std nicht überschreiten. Die Destillation soll in einem Arbeitsgang ohne Unterbrechung durchgeführt werden.

H. KURTENACKER

Über die Verfahren zur Wertbestimmung der schleimhaltigen Grundstoffe aus Pflanzen gibt R. HEGNAUER[5] eine kritische Literaturübersicht, wobei besonders die Arbeiten von GREENBERG[6], R. H. BLYTHE u. Mitarb.[7] sowie AELLIG[8] besprochen werden. Nach GREENBERG[6] bestimmt man die Viscosität einer 0,75%igen Lösung des isolierten Schleims in Wasser. BLYTHE u. Mitarb. übergießen 5 g des zu untersuchenden Materials in einem 500 ml-Meßzylinder mit 500 ml Testflüssigkeit (Wasser, Magensaft, Darmsaft), lassen 2 Std unter Umschütteln (alle 15 min) stehen, dann 18 Std absitzen und lesen hierauf das Volumen des gebildeten Gels ab. Anschließend wird durch Glaswolle filtriert und das Volumen des Filtrates

[1] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 795—798 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Nagoya (Japan).

[2] KINOSHITA, Y., und SH. MORIYAMA: J. pharmac. Soc. Japan **74**, 1032 (1954); vgl. diese Z. **148**, 455 (1955).

[3] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1955**, 960—961. Raths-Apotheke, Hameln.

[4] HAGENSTRÖM, U.: Pharmaz. Ztg.-Nachr. **89**, 48 (1953); Ätherische Oele, Riechstoffe usw. **4**, 259 (1954); vgl. diese Z. **150**, 126 (1956).

[5] Pharmac. Weekbl. **90**, 545—548 (1955) [Holländisch]. Rijksuniv. Leiden.

[6] J. Amer. pharmac. Assoc. **37**, 139 (1948).

[7] J. Amer. pharmac. Assoc. **38**, 59 (1949).

[8] Diss. ETH. Zürich 1952.

gemessen und schließlich wird in einem Osmometer die Wasserbindung des hydrophilen Materials bestimmt. Nach AELLIG ist der Quellungsfaktor für pharmazeutische Zwecke sehr gut brauchbar, wenn das Verfahren, entsprechend der Schweizer Pharmakopöe Ph. H. V. (1948), genau standardisiert ist.

H. KURTENACKER

Zur Bestimmung von Natrium-carboxymethylcellulose eignet sich nach C. R. SZALKOWSKI und W. J. MADER[1] die rote Farbreaktion der Glykolsäure mit 2,7-Dioxynaphthalin. Durch Hydrolyse mit Schwefelsäure entstehen aus Carboxymethylcellulose reproduzierbare Mengen Glykolsäure. Aus pharmazeutischen Produkten, die unter anderem Penicillin, Procain-penicillin, Streptomycin und Dihydrostreptomycin enthalten, wird im ersten Arbeitsgang die Carboxymethylcellulose mit Kupfersulfat gefällt, um Störungen durch die angeführten Beimengungen zu vermeiden. Der Niederschlag wird abfiltriert, in warmer Schwefelsäure gelöst, hydrolysiert, mit 2,7-Dioxynaphthalin versetzt und die Farbe bei 530 mμ im Cary-Spektralphotometer gemessen. — *Arbeitsvorschrift.* Die Probe, die etwa 2 bis 4 mg Natrium-carboxymethylcellulose enthalten soll, wird in einem 250 ml Becherglas in 50 ml Wasser gelöst. Man gibt unter Kontrolle des p_H-Wertes (2,5) verdünnte Salzsäure hinzu, versetzt mit 50 ml 1%iger Kupfersulfatlösung und stellt durch tropfenweise Zugabe von 3%igem Ammoniak auf p_H 4,1 ein. Der Niederschlag bleibt 1 Std stehen, wird dann durch ein Glasfilter filtriert, mit Wasser gewaschen, durch fünfmaliges Übergießen mit je 5 ml warmer, verdünnter Schwefelsäure (300 ml konz. H_2SO_4 + 500 ml Wasser) vom Filter gelöst und die Lösung mit derselben Säure auf genau 50 ml aufgefüllt. Davon gibt man 2 ml in ein größeres, mit Glasstopfen verschließbares Reagensglas und fügt 20 ml des Reagenses (100 mg 2,7-Dioxynaphthalin in 200 ml konz. H_2SO_4, 18 Std im Dunkeln stehenlassen) hinzu. Die Gläser werden verschlossen und 3 Std im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen gibt man nochmals 20 ml verdünnte Schwefelsäure (siehe oben) hinzu und mißt nach 30 min die Absorption bei 530 mμ gegen eine gleichartig behandelte Blindprobe. Nach dieser Methode werden von den vorgegebenen Mengen 98,5%, in anderen Fällen noch mehr wiedergefunden. Wegen der langen Dauer ist das Verfahren für Routineanalysen nicht zu empfehlen; wegen der Spezifität ist es aber für Überprüfungen und zur Kontrolle anderer Methoden besonders gut geeignet.

H. SPECKER

Zur Untersuchung handelsüblicher Rhabarberextrakte gibt H. AUTERHOFF[2] einfache Prüfmethoden an. *Der Nachweis von Rhaponticin* wird am sichersten papierchromatographisch erbracht[3], wofür eine einfache Ausführungsform angegeben wird, bei der man ohne eine besondere Papierchromatographie-Einrichtung auskommt. Zur raschen Orientierung kann man auch 2—3 Tr. der filtrierten Rhabarber-Extraktlösung (0,1 g in 10 ml Äthanol) auf ein Stück Filtrierpapier bringen, trocknen und unter der Quarzlampe betrachten. Rhaponticinhaltige Flecken fluorescieren violett. — Ist Rhaponticin abwesend, so führt man eine *Anthrachinonbestimmung* aus. Man übergießt 50 mg Extrakt mit 7,5 ml Eisessig, kocht 15 min am Rückfluß, gibt durch den Kühler 30 ml Äther zu, kocht weitere 15 min, gießt durch einen Wattebausch ab und kocht den Rückstand ein zweites Mal mit 30 ml Äther 10 min lang. Die vereinigten Ätherlösungen werden mit 15 ml 30%iger Natronlauge und 60 ml 5%iger Natronlauge, die 2% NH_3 enthält, leicht umge-

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **44**, 533—535 (1955). Merck & Co., Inc. Rahway, N. J. (USA).

[2] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1955**, 644—645. Univ. Würzburg.

[3] NEUHOFF, E. W., u. H. AUTERHOFF: Dtsch. Apotheker-Ztg. **1954**, 541; vgl. diese Z. **144**, 447 (1955); **146**, 320 (1955).

schwenkt. Die rote wäßrige Phase wird abgelassen und die Ätherschicht mit 10 ml Natronlauge-Ammoniakgemisch nachbehandelt. Die vereinigten alkalischen Lösungen werden 2 Std im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten mißt man die Farbe bei 530 mμ und stellt die Eichkurven mit Anthrachinon her, oder man vergleicht colorimetrisch mit einer Lösung von Istizin in Natronlauge-Ammoniakgemisch. H. KURTENACKER

Für die Bestimmung von Ascorbigen (Verbindung der Ascorbinsäure mit einem Indolderivat unbekannter Konstitution[1]) wird von V. ŠANDA und Ž. PROCHÁZKA[2] ein neues Verfahren angegeben, bei welchem man das Ascorbigen zunächst hydrolysiert. Die freigesetzte Ascorbinsäure kann dann nach irgendeinem bekannten Verfahren erfaßt werden. Die Brauchbarkeit der Methode ist von der Durchführung der Hydrolyse abhängig, deren beste Bedingungen die Verff. zu ermitteln suchen. Von den geprüften Säuren (0,6%ige Salzsäure, 1%ige Schwefelsäure und 2%ige Oxalsäure, Mischung von Essigsäure und Metaphosphorsäure, 1%ige Ameisensäure, sowie auch dest. Wasser) erwies sich die 1%ige Schwefelsäure als geeignetste zur Bestimmung des Ascorbigens in Konzentraten. Zur Bestimmung in frischen Pflanzensäften verwendet man besser die Lösung von 3 g Metaphosphorsäure + 8 ml Eisessig in 100 ml Wasser, die die Eiweißkörper in dem biologischen Material vollständig fällt und die größte stabilisierende Wirkung auf Ascorbinsäure besitzt. Man erhitzt unter CO_2 als Schutzgas im ersten Falle 10 min, im zweiten Falle 25 min auf dem kochenden Wasserbade. Mit dem Verfahren wurde der Ascorbigengehalt von Rübenkohl, Raps, Rettich und Radieschen bestimmt. H. KURTENACKER

Photometrische Bestimmung von pharmazeutisch angewendeten Phenolen und aromatischen Aminen. A. BERKA und J. ZÝKA[3] untersuchten an einigen Beispielen die Anwendbarkeit der Kupplungsreaktion von Phenolen und aromatischen Aminen mit *p-Diazobenzolsulfonsäure*[4] zu photometrischen Bestimmungen. Die Versuche ergaben, daß die Intensität und Stabilität der erhaltenen Färbung (Absorptionsmaximum bei etwa 440 mμ) sehr von der Größe des Reagensüberschusses abhängt. Am besten verwendet man so wenig Reagens, daß sich bei der größten zur Bestimmung gelangenden Probemenge ein Molverhältnis Probe : Reagens = 1 : 1 ergibt. Die Farbe entwickelt sich dann langsam (etwa in 60 min), bleibt aber nach Erreichen der maximalen Intensität mindestens 24 Std unverändert. Für 6 verschiedene Verbindungen (Phenol, β-Naphthol, Resorcin, Analeptin [Sympatol], Arbutin, Sulfathiazol) werden geeignete Konzentrationsverhältnisse zur Aufstellung der Eichkurven mitgeteilt.

A. BERKA und J. ZÝKA[5] suchen durch neue Versuche die Ursache festzustellen, warum bei der Bestimmung von Phenolen oder aromatischen Aminen mit p-Diazobenzolsulfonsäure[6] nur dann reproduzierbare Werte erhalten werden, wenn die Reaktionspartner im Molverhältnis 1 : 1 vorliegen, bei Reagensüberschuß aber ein ständiges Ansteigen der Farbintensität zu beobachten ist. Die neuen Versuche, bei welchen der Reaktionsverlauf durch colorimetrische Titration, durch die Methode

[1] Vgl. dazu diese Z. **141**, 443 (1954); **142**, 364 (1954).

[2] Československ. Farmac. **4**, 63—64 (1955) [Tschechisch]. Akad. Wiss. Prag.

[3] Československ. Farmac. **4**, 225—227 (1955) [Tschechisch]. Univ. Prag.

[4] Über polarimetrische Titrationen mit Diazobenzolsulfonsäure liegen Untersuchungen von A. JINDRA, R. KALVODA und J. ZÝKA sowie R. KALVODA und J. ZÝKA vor (vgl. diese Z. **137**, 212 [1952/53]; **139**, 280 [1953]).

[5] Československ. Farmac. **4**, 305—308 (1955) [Tschechisch]. Univ. Prag.

[6] Vgl. das vorstehende Referat.

der kontinuierlichen Änderung der Konzentrationsverhältnisse sowie durch die oscillographische Polarographie untersucht wurde, bestätigen die schon früher gemachte Annahme, daß zunächst eine einfache Kupplungsreaktion zwischen je einem Mol der Reaktionspartner stattfindet. Die Farbvertiefung ist auf Neben- oder Folgereaktionen zurückzuführen.

Bei den oscillopolarographischen Studien wurde beobachtet, daß sich der Übergang von saurer zu alkalischer oder alkalischer zu saurer Färbung eines Indicators (z. B. Methylrot oder Methylorange) im Oscillogramm durch Verschwinden oder Auftreten der zugehörigen Kerbe auf der kathodischen Seite der oscillographischen Kurve äußert. Man wird dies z. B. benützen können, um den *Äquivalenzpunkt bei der Titration starker Säuren in gefärbten Lösungen* festzustellen. Das Verfahren ist allerdings nur in verhältnismäßig konzentrierten (0,5 n) Lösungen anwendbar, in schwächeren als 0,1 n Lösungen versagt es. A. KURTENACKER

Pharmazeutische Analyse durch Polarographie. *Zur polarographischen Bestimmung von Propamin und Methylpropamin* gibt K. MATSUMOTO[1] folgende einfache *Vorschrift* an: 0,1—3 mg werden mit 1 ml einer Lösung von 1 g Kaliumnitrat in 10 ml konz. Schwefelsäure während 5 min auf dem Wasserbad zum Nitrieren erwärmt. Das Gemisch wird dann beim Abkühlen mit 10 ml Wasser, schließlich mit 10 ml 30%igem Ammoniak versetzt. Die erkaltete Lösung wird 3mal mit je 20 ml Chloroform extrahiert, die Chloroformlösung wird filtriert und das Filter mit Chloroform nachgewaschen. Schließlich werden die Extrakte eingedampft. Nachdem der Rückstand in 2 ml Aceton, 0,5 ml 1 n KCl-Lösung und 2,5 ml McILVAINE-Pufferlösung von p_H 5 aufgenommen ist, kann in üblicher Weise zwischen 0 und —1,2 V polarographiert werden ($m^{2/3}\, t^{1/6} = 3{,}22$). Die Polarogramme zeigen 2 Stufen. Die Halbstufenpotentiale der Nitroverbindungen liegen bei —0,36 und —0,65 V bzw. bei —0,42 und —0,71 V. Die Stufenhöhen werden mit Eichaufnahmen verglichen.

Auch *Antipyrin* und seine Salze lassen sich nach K. MATSUMOTO[2] polarographisch bestimmen, wenn man 1 ml der 10^{-2} m Lösung während 12 min bei 23—28° C mit 1 ml 0,1 n Schwefelsäure und 1 ml 0,1 m Natriumnitritlösung nitrosiert. Wird überschüssige salpetrige Säure durch 1 ml 0,1 n Natronlauge entfernt, so kann nach Zugabe von 0,5 ml 1%iger Gelatinelösung direkt zwischen —0,3 und —1,3 V polarographiert werden. Die Höhe der 4-Nitrosoantipyrinstufe ist der Konzentration linear proportional bis zu einem Gehalt von $5 \cdot 10^{-3}$ m.

In der 9-Stellung zur Carbonylgruppe oxydierte *Morphinderivate* wie *Morphinon, Codeinon und Thebainon* sind nach K. MATSUMOTO[3] leicht an der Quecksilbertropfelektrode reduzierbar. In McILVAINE-Pufferlösung vom p_H 5 (0,1 n an KCl) wächst z. B. die Stufenhöhe für Sinomenin, das optisch Isomere von 7-Methoxythebainon, und für Dioxycodeinon im Bereich 10^{-5} bis $5 \cdot 10^{-3}$ m Lösung linear mit der Konzentration. Die Halbstufenpotentiale liegen bei —1,2 V.

K. MATSUMOTO[4] hat weiterhin berichtet, daß sich von den *Morphiumalkaloiden* des Benzylisochinolin-Typs nur *Cotarnin*, *Narcein* und *Papaveraldin*, nicht aber

[1] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 949—953 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Publ. Health Lab., Gifu (Japan).

[2] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 1001—1003 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. ref.)

[3] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 1003—1005 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. ref.)

[4] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 1006—1009 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus. fass. ref.)

Narcotin, Gnoscopin, Hydrocotarnin, Codamin, Cryptopin, Laudanidin, Laudanin, Laudanosin und Papaverin direkt polarographisch reduzieren lassen. Die Abhängigkeit der Halbstufenpotentiale vom p_H-Wert in 0,1 n KCl enthaltender McIlvaine- bzw. Kolthoff-Pufferlösung wird für den p_H-Bereich 1—12 angegeben. Die Stufenhöhen sind für $5 \cdot 10^{-5}$ bis $5 \cdot 10^{-3}$ m Lösungen der Konzentration proportional.

K. Cruse

Polarometrische Titrationen von N-haltigen organischen Basen mit Hilfe von Heteropolysäuren und Nitroverbindungen. J. Zýka[1] hat über eine Reihe polarometrischer Titrationen N-haltiger organischer Basen mit Heteropolysäuren und Nitroverbindungen berichtet. Die Titrationen werden an der Quecksilbertropfelektrode ausgeführt gegen eine gesätt. Kalomelelektrode mit 15%iger KNO_3-Lösung als Elektrolytbrücke. Bei Titration mit Phosphorwolframsäure wird gegen die Bodenanode gemessen. Es werden stets 10—20 ml Baselösung (etwa 0,01 m) angesäuert (mit 0,1—0,6 n Salzsäure) und dann mit 0,01 m Maßlösung titriert. Im einzelnen wird berichtet über die Titration von *Procainhydrochlorid, Antipyrin, Amidopyrin, Codeinphosphat, Cocainhydrochlorid, Atropinsulfat, Narcein, Strychninnitrat, Cinchonin, Chininhydrochlorid, Papaverinhydrochlorid und Narcotinhydrochlorid* mit Silicowolframsäure, Phosphorwolframsäure, Pikrinsäure oder mit dem Natriumsalz der Alizarinsulfosäure, sowie mit den wenig geeigneten Maßlösungen von Flaviansäure, Pikrolonsäure, Styphninsäure und Phosphormolybdänsäure. Besonders gute Ergebnisse erhält man bei Titration mit Phosphorwolframsäure für Strychnin und Papaverin, im übrigen ist Silicowolframsäure allgemein besser geeignet. Mit Pikrinsäure werden nur Cinchonin, Papaverin, Strychninnitrat und Narcotinhydrochlorid quantitativ gefällt, Flaviansäure kann zur Bestimmung von Chinin und Cinchonin, Natriumalizarinsulfonat zur Analyse auf Chinin, Papaverin, Strychninnitrat und Narcotinhydrochlorid verwendet werden. Die festgestellten Fehler bewegen sich zwischen 0,1 und 3%.

K. Cruse

Zur colorimetrischen Bestimmung von m-Aminophenol (MAP) in p-Aminosalicylsäure (PAS) verwendet J. Franc[2] die *Farbreaktion mit 4-Aminoantipyrin* in Gegenwart eines Oxydationsmittels [$K_3Fe(CN_6)$]. Das neue Verfahren hat gegenüber der sonst sehr gut brauchbaren Bestimmungsmethode von A. Watanabe und M. Kamada[3] den Vorteil, daß das Reagens nicht immer frisch hergestellt werden muß. Führt man die Reaktion mit 4-Amino-antipyrin in etwa 25%iger Ammoniaklösung durch, stört auch PAS die Bestimmung nicht. Das Absorptionsmaximum der orangeroten Färbung liegt bei 480 mμ. Das Lambert-Beersche Gesetz ist im gesamten geprüften Gebiet (0—0,2 mg/50 ml) erfüllt. — Zur Erstellung der Eichkurve verwendet man PAS, dem ähnliche Mengen MAP zugesetzt werden, wie sie im Hauptversuch vorhanden sind. — *Arbeitsweise.* In einem 100 ml-Meßkolben versetzt man 10 ml der zu prüfenden PAS-Lösung (1 g in 250 ml) mit 10 ml Wasser, 50 ml konz. Ammoniaklösung, 2 ml 3%iger Lösung von 4-Aminoantipyrin, 6 ml 2%iger Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung und füllt mit konz. Ammoniak zur Marke auf. Die colorimetrische Bestimmung erfolgt nach 10 min in der 100 ml-Küvette mit Blaugrünfilter (Lange-Colorimeter). — Aus der mitgeteilten Tabelle geht hervor, daß die nach der beschriebenen Methode erhaltenen Werte mit den

[1] Pharmazie **10**, 170—180 (1955). Univ. Prag (ČSR); Součková, M., und J. Zýka: Českoslov. Farmac. **4**, 181—185, 227—230 (1955); Zýka, J.: Českoslov. Farmac. **4**, 301—305 (1955).

[2] Českoslov. Farmac. **4**, 4—6 (1955) [Tschechisch, m. engl. Zus.fass.]. Forsch.-Inst. org. Synthesen, Pardubice-Rybitví (ČSR).

[3] J. pharmac. Soc. Japan **72**, 972 (1952); vgl. diese Z. **141**, 390 (1954).

Ergebnissen der Extraktionsmethode[1] sehr gut übereinstimmen (Differenzen 0,00 bis ± 0,01% bei etwa 0,1% MAP-Gehalt). H. KURTENACKER

Indirekte komplexometrische Bestimmungsmethoden für Amidopyrin, Dimethylaminoantipyrin (Pyramidon), Isonicotinsäurehydrazid und Hexamethylentetramin lassen sich nach B. BUDĚŠÍNSKÝ[2,3,4] darauf gründen, daß die Stoffe mit Cadmiumjodid oder -rhodanid aus wäßriger oder wäßrig-alkoholischer (maximaler Äthanolgehalt 25%) Lösung (p_H 5—6) quantitativ gefällt werden und zwar in Form der Verbindungen $[R \cdot Cd]\ X_2$ [R = Amidopyrin usw., X = J oder (SCN)]. In den Filtraten wird der Cadmiumüberschuß mit Komplexonlösung zurücktitriert. Die visuelle Rücktitration in Anwesenheit größerer Mengen Jodid-Ionen verläuft nicht so glatt wie neben Rhodanid-Ionen.

Die Bestimmung von Amidopyrin[2] wird nicht gestört durch Purinalkaloide, Barbiturate, Salicylate, Phenacetin, Aneurin, Butazolidin, p-Sulfaminobenzoesäure; sie ist also praktisch in allen Analgeticis möglich. *Bei der Bestimmung von Isonicotinsäurehydrazid*[2,4] sind die als Verunreinigungen vorkommenden Verbindungen (Isonicotinsäure und deren Hydrazoniumsalz sowie Oxalsäurehydrazid) ohne schädliche Wirkung. — *Ausführung.* Man löst 50—400 mg Amidopyrin oder 40—300 mg Isonicotinsäurehydrazid im 50 ml-Meßkolben in Wasser, fügt 10 ml 0,25 m Cadmiumrhodanidlösung (66,62 g krist. Cd-Acetat + 100 g Ammoniumrhodanid im Liter) zu, füllt mit Wasser zur Marke auf und filtriert. 25 ml des Filtrates titriert man nach Zugabe von Pufferlösung und Eriochromschwarz T in üblicher Weise mit 0,05 m Komplexonlösung (deren Titer gegen Dipyridozinkrhodanid, $[(C_5H_5N)Zn](SCN)_2$, gestellt wird). Der Blindversuch wird in gleicher Weise durchgeführt. 1 ml 0,05 m Komplexonlösung entspricht 11,57 mg Amidopyrin bzw. 6,857 mg Isonicotinsäurehydrazid. Aus Tabletten wird der Wirkstoff (Amidopyrin) mit Äthanol extrahiert. Die Analysenfehler übersteigen nicht ± 0,5 bis 0,8%. A. KURTENACKER

Das Bestimmungsverfahren für Dimethylaminoantipyrin (Pyramidon[3]) wird durch keinen der Stoffe gestört, mit denen Pyramidon in Arzneimitteln gewöhnlich kombiniert ist. So wirken nicht störend: Phenacetin, Coffein, Luminal, Veronal, Aneurin, Butazolidin, Allobarbital, p-Sulfamidobenzoesäure, Salicylate. — *Ausführung.* Man extrahiert eine etwa 0,5 g Pyramidon entsprechende Menge Probe (Tabletten o. dgl.) mit 3 × 10 ml 95%igem Äthanol, wobei man jedesmal aufkocht. Zu der heiß filtrierten, hierauf abgekühlten Lösung gibt man im 100 ml-Meßkolben 20 ml 0,25 m Cadmiumrhodanidlösung (66,62 g Cadmiumacetatdihydrat + 1000 g Ammoniumrhodanid im Liter), füllt zur Marke auf, filtriert nach 10 min und titriert in 50 ml des Filtrates den Cadmiumüberschuß in üblicher Weise mit 0,05 m Komplexon III-lösung. — 200 bis 900 mg Pyramidon (in reinen Lösungen) können auf etwa ± 0,5% genau oder besser bestimmt werden.

Bestimmung von Hexamethylentetramin[4]. Man löst 0,1—0,2 g Hexamethylentetramin im 25 ml-Meßkolben in 10 ml Wasser, versetzt mit 10 ml 0,5 m Cadmiumrhodanidlösung (die doppelt so konzentriert ist wie die früher[2] verwendete Lösung) und füllt mit Wasser zur Marke auf. Nach 2 Std wird filtriert und das Cadmium in 10 ml des Filtrates komplexometrisch titriert. 1 ml 0,5 m Cadmiumrhodanidlösung entspricht 0,03505 g Hexamethylentetramin. — Das Verfahren eignet sich zur Bestimmung von Hexamethylentetramin in pharmazeutischen Zubereitungen (Injektionen und Tabletten). Z. STEJSKAL

[1] FASCHALEK, J.: Pharmazie **8**, 208 (1953); vgl. diese Z. **141**, 389 (1954).
[2] Pharmazie **10**, 597—599 (1955). Forsch.-Inst. f. Pharmazie u. Biochem. Prag.
[3] BUDĚŠÍNSKÝ, B.: Českoslov. Farmac. **4**, 71—73 (1955) [Tschechisch].
[4] BUDĚŠÍNSKÝ, B.: Českoslov. Farmac. **4**, 185—186 (1955) [Tschechisch].

Papierchromatographie von lokalanaesthesierenden Stoffen. J. REICHELT[1] untersuchte 20 Lokalanaesthetica auf ihr papierchromatographisches Verhalten. Whatman-Papier Nr. 1 oder 3 wurde mit einer Lösung von Formamid in Äthanol (4:6) imprägniert[2]. Nach dem Trocknen wurde absteigend unter Verwendung der Lösungsmittel Benzol, Benzol + Chloroform (6 + 4) oder Chloroform chromatographiert. Zur Sichtbarmachung der Flecke dienten die Fluorescenz im UV-Licht oder Besprühen mit p-Dimethylaminobenzaldehydlösung bzw. mit DRAGENDORFFS Reagens. Verschiedene Lokalanaesthetica lassen sich so glatt voneinander trennen; als Beispiele werden angeführt die Trennungen von *Procain, Benzocain und Butoform* in den Injektionen Abiolamin; *Percain von Procain und Rivanol* in den Injektionen Optocain; *Procain, Tetracain und Percain.* Ferner werden Arbeitsvorschriften für den Nachweis von *Procain* (Benzocain, Butoform) in Injektionslösungen, für die Untersuchung von *Anaesin unguentum* und Suppositorien und von Percaintabletten gegeben. Das Verfahren kann mit Erfolg zur Feststellung von etwaigen Verwechslungen von Arzneimitteln, z. B. von Procain mit Percain oder Tetracain verwendet werden. Z. STEJSKAL

Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung des Lokalanaesthetieums Hostacain geben A. HÄUSSLER und L. THER[3] im Anschluß an eine frühere Mitteilung[4] weitere Verfahren an. *Nachweis:* Mit 1 Tr. 10%iger $K_4Fe(CN)_6$-Lösung gibt die mit Salzsäure angesäuerte Hostacainlösung eine charakteristische Mikrokristallfällung, die besonders im polarisierten Licht deutlich von der unter den gleichen Bedingungen erhaltenen Fällung von Xylocain zu unterscheiden ist. Pantocain, Novocain und Cornecain geben keine Fällungen. Eine Hostacainkonzentration von 0,2% kann noch sicher erkannt werden. Der Nachweis gelingt auch in handelsüblichen Lösungen, denen Suprarenin bzw. Arterenol zugesetzt ist. — *Zur quantitativen Bestimmung* eignen sich die colorimetrischen Mikrobestimmungsmethoden mit *Bromkresolpurpur* (I) oder *Tropäolin 00* (II), die allerdings nicht spezifisch sind und deshalb eine vorhergehende Identifizierung erfordern. Beide Methoden liefern gut reproduzierbare Werte und in Konzentrationsbereichen bis zu etwa 200 μg Hostacain/25 ml Lösung lineare Eichkurven. II gibt höhere Extinktionswerte. — *Ausführung.* Man versetzt 5 ml der wäßrigen Lösung (mit 25 bis 200 μg Hostacain) mit 5 ml Acetatpuffer p_H 4,6 und 3 ml 0,1%iger Farbstofflösung und schüttelt viermal mit je 5 ml Chloroform aus. Zur Farbentwicklung setzt man bei Methode I 1 ml alkalisches Reagens (1 ml 15%ige Natronlauge mit Methanol auf 100 ml aufgefüllt), bei Methode II 1 ml saures Reagens (1 ml konz. Schwefelsäure mit Methanol auf 100 ml verdünnt) zu, füllt mit Chloroform zur Marke auf und mißt die Farbe im LANGE-Colorimeter mit Filter OG 2 bzw. VG 9 gegen den entsprechenden Blindwert. A. KURTENACKER

Zur Bestimmung von Sanorin (Nafazolin, Privin) (= 2-Naphthyl-1-methylimidazolin) empfiehlt B. NOVOTNÝ[5] das polarographische Verfahren. Der Wirkstoff kommt in Form einer Emulsion (1 mg Wirkstoff in 1 ml) in den Handel. 1 ml der

[1] Českoslov. Farmac. **4**, 297—301 (1955) [Tschechisch]. Pharmazeut. Kontrollinst. Prag.

[2] Siehe REICHELT, J.: Českoslov. Farmac. **3**, 330 (1954).

[3] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1955**, 886—888. Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt-Höchst a. M.

[4] HÄUSSLER, A., u. L. THER: Arzneimittel-Forsch. **3**, 609 (1953); vgl. diese Z. **146**, 146 (1955).

[5] Českoslov. Farmac. **4**, 309—310 (1955) [Tschechisch]. Staatl. Inst. zur Arzneimittelkontrolle Prag.

Emulsion wird mit 20 ml 1%iger Pikrinsäurelösung gefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert, nach dem Waschen (mit einer Lösung, die 2 ml 1%iger Pikrinsäurelösung im Liter enthält) in 5 ml Eisessig gelöst und die Lösung nach nochmaligem Filtrieren und Verdünnen mit Wasser polarographiert. Zur Eichung versetzt man eine zweite Abnahme von 1 ml Emulsion mit 1 ml 0,1%iger wäßriger Lösung von reinem Sanorin und verfährt weiter wie im Hauptversuch. Z. Stejskal

Zur Bestimmung von Allylsenföl (Allylisothiocyanat) empfehlen A. Berka und J. Zýka[1] die direkte Titration mit Jodat oder Perjodat nach Umwandlung des Senföls mit Ammoniak in *Thiosinamin*: $C_3H_5 \cdot NCS + NH_3 = C_3H_5 \cdot NH \cdot CS \cdot NH_2$. Aus dem Thiosinamin entsteht mit Jodat (Perjodat) das entsprechende Disulfid: $6\,C_4H_8N_2S + KJO_3 = 3\,(C_4H_7N_2S)_2 + 3\,H_2O + KJ$. Die Titration kann auch mit Bromat in heißer, stark saurer Lösung in Gegenwart von Bromid durchgeführt werden, doch hat das Verfahren gegenüber den erstgenannten Methoden keine Vorteile. Andere Oxydationsmittel [Cer(IV), $[Fe(CN)_6]^{3-}$ in alkalischer Lösung, Brom in Eisessig, Natriumnitrit] erwiesen sich als ungeeignet. *Thioharnstoff* kann ebenso wie Thiosinamin bestimmt werden. — *Ausführung. Zur Bestimmung von Thiosinamin* titriert man 10 ml Probelösung in einer 1 n salzsauren Lösung mit 0,01 m KJO_3-Lösung potentiometrisch unter Verwendung eines Platindrahtes als Indicatorelektrode und der gesätt. Kalomelelektrode als Vergleichselektrode. Der Titrationsverlauf ist ähnlich wie bei der Dead stop-Methode, das Potential bleibt also bis in der unmittelbaren Nähe des Äquivalenzpunktes fast unverändert, dann verursacht die Zugabe eines einzigen Tropfens Maßlösung ein plötzliches Ansteigen des Potentials. Gleichzeitig tritt Jodfärbung auf. Nach etwa 30 sec sinkt das Potential wieder. Als Äquivalenzpunkt gilt der erste plötzliche Potentialanstieg. 1 ml 0,01 m KJO_3-Lösung entspricht 6,971 mg Thiosinamin. Drei mitgeteilte Beleganalysen zeigen Bestimmungsfehler von +0,5 bis +3% bei Anwendung von 11—23 mg Thiosinamin. — *Die Bestimmung von Thioharnstoff* erfolgt unter den gleichen Bedingungen. Das Endpotential ist stabiler als bei Thiosinamin, die Analysengenauigkeit ist ungefähr die gleiche. — *Bestimmung von Allylsenföl (Oleum sinapis).* Man versetzt etwa 0,25 g Probe im 100 ml-Meßkolben mit 10 ml 96%igem Äthanol und 2,5 ml 25%iger NH_3-Lösung, erhitzt im Wasserbad zunächst 10 min auf 50° C, dann 10 min auf 70° C und füllt nach dem Abkühlen zur Marke auf. 10 ml der Lösung werden hierauf mit Salzsäure neutralisiert, dann mit konz. Salzsäure bis zur Konzentration von 1 n HCl versetzt und anschließend wie beschrieben titriert. 1 ml 0,01 m KJO_3-Lösung entspricht 5,949 mg Allylisothiocyanat. — *Untersuchung von Senfsamen.* Etwa 5 g der zerkleinerten Probe läßt man zur Zerlegung des Glucosids in 100 ml Wasser von 20—25° C 2 Std unter zeitweiligem Umschütteln stehen, fügt dann 10 ml 96%iges Äthanol zu und destilliert etwa 60 ml in einen 100 ml-Meßkolben, der 10 ml 96%iges Äthanol und 15 ml 25%ige NH_3-Lösung enthält. Man füllt mit Äthanol bis fast zur Marke auf, erwärmt im Wasserbad und verfährt weiter wie bei der Bestimmung von Allylsenföl. — *Senfspiritus* enthält je nach Alter neben Allylsenföl größere oder kleinere Mengen N-Allyl-äthylthiourethan (NA). Man bestimmt in einer Probe die Summe von Senföl und NA nach dem für Senföl beschriebenen Verfahren und in einer zweiten Probe NA allein durch Titration mit Jodat ohne vorhergehende Behandlung mit Ammoniak. A. Kurtenacker

Reinheitsprüfung des Äthylesters der N-Methyl-4-phenyl-piperidin-4-carbonsäure (I). Nach K. Fučík und H. Uhlířová[2] kommt als Verunreinigung von I

[1] Československ. Farmac. 4, 222—225 (1955) [Tschechisch]. Univ. Prag.

[2] Československ. Farmac. 4, 8—9 (1955) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. Pharm. u. Biochem. Prag.

(Dolantin) der Äthylester der N-Benzyl-4-phenylpiperidin-4-carbonsäure (II) in Betracht. I und II liegen in den Präparaten (Tabletten, Tropfen, Injektionen) als Hydrochloride vor. Die Trennung der Stoffe geschieht papierchromatographisch. — *Ausführung.* Man trägt auf Whatman-Papier Nr. 1 in 3 cm Abstand Standardlösung II (25 μg), Standardlösung I (50 μg) und die zu prüfende Lösung (500 μg) (alles wäßrige Lösungen) auf und setzt das Papier nach dem Trocknen NH_3-Dämpfen aus, um die freien Basen zu erhalten. Dann wird mit Wasser-Isopropanol (9:1) absteigend bis zu einem Laufweg von 42 cm (6 Std) chromatographiert, getrocknet und mit DRAGENDORFFS Reagens besprüht. Die R_f-Werte sind für I 0,63, für II 0,29, die Nachweisempfindlichkeiten für I 20 μg, für II 10 μg. Z. STEJSKAL

Bestimmung und Extraktion von Barbitursäurederivaten. Zur Bestimmung empfiehlt, T. KAWAHARA[1] die zu untersuchende, mit dem Kupfer(I)-Pyridinreagens versetzte Lösung mit Chloroform auszuschütteln und die Farbintensität der rotvioletten Chloroformschicht zu messen. Die verschiedenen Barbiturate zeigen gewisse Unterschiede in der Lage der Extinktionsmaxima im sichtbaren Spektralbereich. So besitzen Lösungen von 0,04 g in 4 ml Chloroform Maxima bei folgenden Wellenlängen: Luminal 500 mμ, Adorm 430 mμ, Veronal 580 mμ, Dial 519 mμ, Amytal 520 mμ. — Bei der Abtrennung der Lipoide in saurem Milieu nach der Methode von STAS-OTTO ergeben sich große Verluste an Barbitursäurederivaten; besser werden die Lipoide in alkalischem Milieu entfernt (etwa 15% Verlust). Nach enzymatischer Verdauung der Organe mit Pepsin, Pankreatin, Papain und Diastase werden 80—90% der vorhandenen Barbiturate wiedergefunden. Die enzymatische Verdauung braucht allerdings 48 Std; sie erfordert aber keine teuren Reagentien (Alkohol usw.) und die Resultate sind nicht niedriger als bei dem viel umständlicheren Verfahren von STAS-OTTO. Verf. empfiehlt auch eine neu ausgearbeitete Extraktionsmethode der Barbitursäurederivate aus Leichenteilen mit Hilfe von Anionenaustauscherharzen; das Verfahren ist rasch ausführbar und mindestens so genau wie die Methode von STAS-OTTO. A. KURTENACKER

Über die papierelektrophoretische Trennung der Sulfonamide haben A. OKÁČ und V. JOKL[2] unabhängig von G. WAGNER[3] Versuche angestellt, bei welchen besonders der Einfluß des p_H-Wertes auf die Trennungsmöglichkeiten untersucht wurde. Die Versuchsergebnisse decken sich im wesentlichen mit den Befunden von G. WAGNER[3]. A. KURTENACKER

Eine schnelle und genaue Methode für die Rutinbestimmung hat G. DUŠINSKÝ[4] ausgearbeitet. Die Methode beruht auf dem Messen der Lichtabsorption im sichtbaren Spektrum in einer gepufferten alkalischen Lösung bei 410 mμ. In der alkalischen Lösung verschiebt sich die sonst im UV-Gebiet liegende Absorption des Rutins in den sichtbaren Bereich. 25—200 μg Rutin können auf diese Art auch in Arzneigemischen (Chemorutin-Dragées, Rutophyllin-Dragées, Rutophyllin-Injektionen) bestimmt werden. Im angegebenen Mengenbereich ist das BEERsche Gesetz auf $\pm$ 1,5% genau erfüllt. Stärke, Saccharose, Theophyllin, Theophyllinäthylendiamin und Phenobarbital beeinträchtigen die Rutinbestimmung nicht. — *Arbeitsvorschrift.* Die 2—5 mg Rutin enthaltende Probe wird im 50 ml-Meßkolben in Methanol gelöst und die Lösung mit Methanol zur Marke aufgefüllt. Eine höchstens 250 μg Rutin entsprechende Abnahme wird mit Methanol auf 5 ml verdünnt, mit

[1] Jap. J. Legal Med. **9**, 116—130 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass.refer.) School of Medic., Univ. Kyushu (Japan).

[2] Československ. Farmac. **4**, 219—220 (1955) [Tschechisch]. Univ. Brünn (ČSR).

[3] Pharmazie, **9**, 385 (1954); vgl. diese Z. **147**, 447 (1955).

[4] Československ. Farmac. **4**, 68—69 (1955) [Slowakisch]. Staatl. Inst. f. Arzneimittelkontrolle, Bratislava (ČSR).

5 ml 0,1 n NaOH-0,05 m $NaHCO_3$-Gemisch (1:1) versetzt und in der 1 cm-Küvette bei 410 mμ gemessen. Z. Stejskal

Digitalisglucoside. R. Dequeker und M. Loobuyck[1] empfehlen eine *colorimetrische Methode zur Bestimmung digitoxose(DX)haltiger Digitalisglucoside* auf Grund der von ihnen festgestellten Beobachtung, daß die bei Durchführung der Perez-Dequeker-Reaktion mit den genannten Glucosiden auftretende Gelbfärbung ein Absorptionsmaximum bei 4740 Å zeigt, dessen Extinktion proportional der vorliegenden Menge DX ist. Man löst 10—20 μg DX oder eine dieser äquivalente Menge des zu ermittelnden Glucosides in 1 ml trockenem Aceton bzw. suspendiert dieses, wenn keine völlige Lösung erfolgt. Nun ergänzt man die Lösung mit Phosphorsäure (D 1,70) auf 5 ml, mischt mit einem Glasstab und erwärmt 15 min in einem Bad von 35° C. Nach Abkühlen des Ansatzes auf 20° C bestimmt man in einer 1 cm-Küvette die Lichtabsorption bei 4740 Å im Spektrophotometer, wobei eine ebenso behandelte Aceton-Phosphorsäuremischung als Blindwert dient. Als Standard verwendet man Lösungen bekannten Gehaltes an DX oder eines reinen, diesen Zucker enthaltenden Glucosides. Gegebenenfalls anwesende Genine oder Digitalinum verum stören nicht. Die Bestimmung kann sinngemäß unter Anwendung der Keller-Kiliani-Reaktion durchgeführt werden, doch ist dieses Verfahren weniger empfindlich. Das Original enthält die analytischen Daten für *Desacetyldigilanid A und B, Digitoxin* und *Gitoxin*. K. Söllner

Y. Sasakawa[2] beschreibt ein Verfahren, um in den Blättern von Digitalis purpurea die sogenannten *Glucoside der B-Serie* [Purpureaglucosid B, Digitalinum verum (DV), Gitorin, Gitoxin, Strospesid (S) und Gitoxigenin (GG)] und außerdem noch 6 neue Substanzen (I bis VI), die eine von den B-Glucosiden abweichende Fluorescenz zeigen, papierchromatographisch von einander zu trennen. Auch die Trennung von den Glucosiden der A-Serie (Purpureaglucosid A, Digitoxin, Digitoxigenin) und von dem nicht herzwirksamen Glucosid Diginin gelingt. — Es wird bei 17 $\pm$ 1° C auf Toyo-Papier Nr. 52 aufsteigend nach einer Sättigungsdauer von mehr als 20 Std chromatographiert. Der Laufweg beträgt mehr als 20 cm. Zur Sichtbarmachung der Flecken dienen die Sprühreagentien a) 25%ige Lösung von Trichloressigsäure in Chloroform, b) 20%ige Lösung von Antimon(III)-chlorid in Chloroform, c) 20%ige Lösung von Trichloressigsäure und 0,6%ige Lösung von Chloramin in 80%igem Äthanol. Nach dem Besprühen erhitzt man bei a) 4 min auf 100° C, bei b) 2—5 min auf 70° C, bei c) 10 min auf 120° C und beobachtet dann Farbe und Fluorescenz der Flecken. Es werden 12 Lösungsmittelgemische angegeben, die jeweils besondere Trennungen ermöglichen. — So sind für die Trennung *Gitoxigenin-Substanz I* besonders geeignet: Benzol-Äthylacetat-Wasser (8:5:4) und Benzol-Methanol-Wasser (5:4:2) (R_f-Werte GG 0,67 bzw. 0,20; Substanz I 0,55 bzw. 0,30). — Für die Abtrennung von *Gitoxin* eignet sich Chloroform-Methanol-Wasser (10:2:5) (R_f: 0,21). — Für *Strospesid und die Substanzen II, III, IV*: Äthylacetat-Benzol-Methanol-Wasser (86:14:2:50) und Äthylacetat-Wasser (1:1) (R_f-Werte S 0,68 bzw. 0,60; Substanz II 0,43, 0,50; Substanz III 0,29, 0,23; Substanz IV 0,22, 0,15). — Für *Digitalinum verum, Substanzen V und VI*: Äthylacetat-Methanol-Wasser (8:2:5) und Benzol-Cyclohexanol-Wasser (2:2:1) (R_f-Werte DV 0,39, 0,25; Substanz V 0,15, 0,14; Substanz VI 0,00, 0,07). Für *Gitorin*: n-Heptanol-Wasser (1:1) (R_f 0,38). Für *Purpureaglucosid B*: n-Octanol-Isopentanol-Wasser (7:3:5) (R_f 0,52). Weitere Lösungsmittelgemische sind für Trennungen der Glucoside der A-Serie bestimmt. A. Kurtenacker

[1] J. Pharmacy Pharmacol. 7, 522—526 (1955). Univ. Löwen (Belgien).

[2] J. pharmac. Soc. Japan 75, 946—949 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Takeda Pharmaceutical Inds., Ltd. Osaka (Japan).

Alkaloide. *Zur photometrischen Bestimmung von Alkaloiden* empfehlen H. Thies, C. H. Sorgenfrey und F. W. Reuther[1] die Anwendung der Methode nach K. Wallenfels und W. Christian[2], bei der die Absorption mit Hilfe einer Hg-Niederdrucklampe und Leuchtstoff S 17 im kurzwelligen UV-Licht bei der Wellenlänge 253,7 mμ gemessen wird. Zur Untersuchung kamen *Papaverin, Morphin* und *Ephedrin*. Als mittlerer Fehler des Extinktionskoeffizienten wird ± 0,15 bis 0,4%, als mittlerer Fehler der Einzelmessungen ± 0,5 bis 1,0% angegeben.

Doris Heiligmann

L. Leiserson und Th. B. Walker[3] schlagen für die *papierchromatographische Trennung der Nicotiana-Alkaloide* folgendes Verfahren vor: 17,5 × 40 cm große Streifen von Whatman Nr. 1-Papier besprüht man gleichmäßig mit 10 ml eines Puffergemisches von p_H 5,6 (95 ml 0,2 m Essigsäure + 905 ml 0,2 m Natriumacetatlösung). Die an der Luft getrockneten Streifen beschickt man auf der Startlinie mit Lösungen von 10—50 μg der Alkaloidgemische (Tabakauszüge oder Kondensate von Tabakrauch) bzw. der Bezugsalkaloide und bringt sie 30 min in eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre. Dann entwickelt man 16 Std lang nach der aufsteigenden Methode mit 1-Butanol, das mit dem Acetatpuffer von p_H 5,6 gesättigt ist bei etwa 24° C. In den Entwicklungsbehälter bringt man eine Schale mit der anorganischen oder organischen Phase des angeführten Entwicklungssystems und einen Papierstreifen, der diese aufsaugt. Nach Besprühen des luftgetrockneten Chromatogrammes mit 1%iger alkoholischer p-Aminobenzoesäurelösung läßt man dieses wieder an der Luft trocknen und hängt es in einen Bromcyandämpfe enthaltenden Behälter, wobei die Alkaloide als gefärbte Flecken erscheinen. Verff. erhielten bei Anwendung der beschriebenen Technik in mit dem Dampf der anorganischen (1. Zahl) bzw. organischen (2. Zahl) Phase des Entwicklersystems gesättigter Atmosphäre folgende R_f-Werte: Nicotyrin 0,93; 0,84. Oxazin 0,90; 0,85. Nicotin 0,75; 0,75. Nicotinamid 0,64; 0,59. Metanicotin 0,62; 0,55. Anabasin 0,55; 0,51. Nornicotin 0,41; 0,41. Oxynicotin 0,36; 0,33. N-Methylmyosmin 0,31; 0,28. Nicotinsäure 0,15; 0,12.

K. Söllner

Die Trennung der Alkaloide von Anabasis aphylla mit Ammoniumchlorid beschreiben A. S. Sadykov, O. S. Otroščenko und A. E. Ešbaev[4]. Zur Gewinnung von Anabasinchlorhydrat werden 10 g frisch destilliertes Anabasin in 50 ml Aceton gelöst, 3,32 g Ammoniumchlorid zugefügt, 8—9 Std bei der Lösungsmitteltemperatur auf dem Wasserbade erwärmt und das ausgeschiedene Ammoniak in 1 n Schwefelsäure aufgefangen. Am nächsten Tage wird das Anabasinchlorhydrat abfiltriert, mit Aceton ausgewaschen und aus Aceton-Alkoholmischung umkristallisiert. Zur Gewinnung von Anabasinjodhydrat werden 5 g Anabasin in 15 ml Aceton gelöst, 4,51 g Ammoniumjodid zugegeben, 20 min gerührt und anschließend die Mischung im Eis abgekühlt. Das ausgeschiedene Anabasinjodhydrat wird abfiltriert und mit Aceton ausgewaschen. Zur Trennung von Anabasin-Lupininmischung werden 20 g Substanz in 100 ml Aceton aufgelöst, 6,6 g Ammoniumchlorid zugefügt, 8—9 Std erwärmt, in Eis gekühlt, das ausgeschiedene Anabasinchlorhydrat abfiltriert und mit Aceton ausgewaschen. Aus dem Filtrat wird das Aceton entfernt, der Rest in 20 ml Wasser aufgelöst und mit Benzol oder Chloroform extrahiert. Nach der Entfernung vom Lösungsmittel und Umdestillieren im Vakuum wird die gewonnene ölige Substanz aus Petroläther auskristallisiert.

Martha Wildau

[1] Naturwissenschaften **42**, 605 (1955). Univ. München.

[2] Angew. Chem. **65**, 459 (1953); vgl. diese Z. **145**, 385 (1955).

[3] Analyt. Chemistry **27**, 1129—1130 (1955). Liggett and Myers Tobacco Co., Durham, N.C. (USA).

[4] Ž. prikl. Chim. (J. angew. Chem.) **28**, 440—444 (1955) [Russisch].

Die Identifizierung von Atropin oder Scopolamin neben Opiumalkaloiden in Injektionsflüssigkeiten kann nach H. Sakurai und Sh. Chiba[1] durchgeführt werden, indem man zunächst mit Ammoniak das Papaverin, Narcotin und den größten Teil von Morphin fällt, den Niederschlag abfiltriert und aus dem Filtrat Codein und Atropin oder Scopolamin mit Äther ausschüttelt. Codein und Atropin werden durch Marmés-Reagens abgeschieden und mit Hilfe der Vitali-Reaktion indentifiziert. (Die Fällungsempfindlichkeit mit Marmés-Reagens beträgt 1 mg Codeinchlorid, 3 mg Atropinsulfat bzw. 5 mg Scopolaminbromid je Milliliter Lösung.) — Zur Identifizierung von Atropin in Eucodal-Hydrocotarnin-Atropininjektionen fällt man Eucodal mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin, den Reagensüberschuß mit Aceton, zentrifugiert und extrahiert aus der überstehenden Flüssigkeit Atropin und Hydrocotarnin mit Benzol. Atropin und Hydrocotarnin werden anschließend papierchromatographisch getrennt, der Atropinfleck wird mit Methanol extrahiert und das Atropin mit der Vitali-Reaktion identifiziert.

K. Söllner

Über oscillopolarographische Studien an Chinin, Chinidin, Cinchonin und Cinchonidin berichtet V. Parrák[2]. Die Oscillogramme wurden in Britton-Robinson-Puffer von p_H 5,5—6,5 mit 2—3 ml der 20—60 mg-%igen Lösungen der Alkaloide aufgenommen. Jeder der Stoffe ist durch einen sehr gut entwickelten Einschnitt auf dem Oscillogramm gekennzeichnet; es ist möglich *Chinin* und *Cinchonin* voneinander zu unterscheiden, was mit der klassischen Rosenthaler'schen Methode nicht gelingt. Beim 60 min langen Erhitzen 30 mg-%iger Lösungen von Chinin in n Essigsäure am Rückflußkühler bleibt das Oscillogramm im wesentlichen unverändert.

Z. Stejskal

Eine Methode zur Isolierung und Reinigung kleiner Mengen Morphin aus Mohnkapseln beschreiben L. A. Achor und E. M. K. Geiling[3]. — 2 g bei 80° C getrocknete, gepulverte Mohnkapseln werden in einem Zentrifugenglas von 40 ml Inhalt mit 10 ml 10%iger Sodalösung gemischt, nach 1 Std durch Zusatz von etwa 5 ml 20%iger Ammoniumchloridlösung auf p_H 8,6 ± 0,1 gebracht, mit 15 ml einer Mischung gleicher Teile 1-Butanol—Benzol extrahiert und durch Zentrifugieren getrennt. Die Extraktion wird 2mal mit je 10 ml der gleichen Mischung wiederholt. Nach Ausschütteln der vereinigten organischen Auszüge mit 2mal 15 ml 5%iger $NaHCO_3$-Lösung werden sie weiterhin mit 15 ml 0,525 n Schwefelsäure extrahiert und 2mal mit je 10 ml Wasser nachgewaschen. Nun wird die saure, morphinhaltige Lösung mit 11,4 ml einer gesättigten Lösung von Bariumhydroxyd in 2%iger Kalilauge geschüttelt und durch eine Kolonne (0,8 × 20 cm) von Nalcite SAR (Hydroxydform) laufen gelassen, so daß in der Minute 0,2—0,4 ml passieren. Zur Entfernung von Farbstoffen wird das Harz mit 200 ml 50%igem wäßrigem Methanol gewaschen, dann wird das Morphin mit 0,1 n Salzsäure herausgelöst, wobei es bereits in den ersten 30 ml des Eluates restlos erfaßt wird. Nach Abstumpfen der Lösung mit etwa 3 ml 10%iger Natronlauge auf p_H 7,0 läßt man die Lösung eine Kolonne von mit 0,5 m KH_2PO_4-Na_2HPO_4-Lösung auf p_H 7,0 gepuffertem Amberlite IRC-50 von den oben angeführten Dimensionen passieren. Schließlich erfolgt die Reinigung und Eluierung des Alkaloides wie oben angegeben. Da meist noch geringe Verunreinigungen durch Farbstoffe vorhanden sind, wird nachfolgendes Reinigungsvorhaben empfohlen: Nach Alkalisieren mit wäßrigem Am-

[1] J. Pharmac. Soc. Japan **75**, 106—107 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Sankyo Co., Ltd., Tokyo (Japan).

[2] Československ. Farmac. **4**, 337—339 (1955) [Slowakisch]. Staatl. Inst. f. Arzneimittelkontrolle Bratislava (ČSR).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1061—1062 (1954). Univ. Chicago, Ill. (USA).

moniak auf p_H 8,6, Ausschütteln mit 15 ml, dann 2mal mit je 10 ml Chloroform—Äthanol (3:1) und Abdampfen, löst man den Rückstand in 0,5—1 ml 0,1 n Salzsäure. Nach Zusatz von 4 Tropfen Äthanol und 1 Tropfen konzentriertem Ammoniak beginnt die Kristallisation gewöhnlich sofort. Das so erhaltene Morphin ist völlig rein, wie sich auf Grund der UV-Absorption, Elementaranalyse und verschiedener physikalischer Konstanten feststellen läßt. Die Ausbeute beträgt mindestens 92%. Das Verfahren ist auch auf pharmazeutische Präparate und tierische Gewebe anwendbar.

O.-E. Schulz und D. Strauss[1] berichten über ein *Verfahren zur quantitativen Bestimmung kleiner Mengen Morphin oder Strychnin durch Ausmessen der Fleckenfläche auf Papierchromatogrammen.* Auf Sch. & Sch.-Papier 2043 b/Mgl trägt man 0,01 ± 0,00005 ml der Analysenlösung mit einer Mikrometer-Syringe („Agla", Firma Burroughs Wellcome u. Co., London) auf und chromatographiert aufsteigend mit n-Butanol—Eisessig—Wasser (100:20:53,5) oder n-Butanol—96%ige Ameisensäure—Wasser (120:20:70) mit abgetrennter wäßriger Phase, wobei die Kammer zuvor mit der wäßrigen Phase gesättigt werden muß. Die Alkaloidmenge soll 40—80 μg, die Steighöhe 100—130 mm betragen. Die lufttrockenen Chromatogramme besprüht man bei Strychnin mit abgeändertem Dragendorff-Reagens (Lösung A: 850 mg Bismut. subnitric. in 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig; Lösung B: 8,0 g KJ in 20 ml Wasser; je 5 ml A und B in 20 ml Eisessig und 100 ml Wasser ergeben das Sprühreagens), bei Morphin mit 1%iger Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung, die auf 10 ml 4—5 Tropfen Liquor Ferri sesquichlorati enthält. Der Reagensüberschuß muß nach 1—2 min ausgewaschen werden. Die Fläche der über einer erleuchteten Mattglasscheibe markierten Flecken bestimmt man mit einem Planimeter der Firma Dumert u. Pape, Hamburg. Der Logarithmus des Alkaloidgehaltes ist proportional der Fleckenfläche. Bei Einhaltung der angeführten Bedingungen wird eine Genauigkeit von ± 5—10% erreicht.

Morphin (I) und Nalorphin (n-Allylnormorphin) (II) lassen sich nach E. Pedley[2] durch einige mikrochemische Fällungsreaktionen unterscheiden und papierchromatographisch trennen: Bei Durchführung der Fällungen nach den „Official Methods of Analysis, Association of Official Agricultural Chemists", Washington 7th Ed., S. 601 entsteht mit Marmes Cadmiumjodid-Reagens bei I eine silberweiße, rasch in feine weiße Nadeln übergehende gelatinöse Fällung, bei II eine amorphe Masse. Mit Wagners Jod-Reagens bildet sich bei I eine rotbraune, langsam in glänzende rote plattenförmige Kristalle übergehende Fällung, bei II ein rotbrauner, nicht kristallisierender Niederschlag. Frisch über roten Phosphor destillierte Jodwasserstoffsäure erzeugt bei I lange, bündelförmige Nadeln, bei II kurze Kristalltafeln (Photos im Original). Eine gesättigte Lösung von Pikrolonsäure in 20%igem Alkohol führt I in kugelige Massen über, die beim Stehen Nadelbündel bilden, während II zunächst eine homogene Masse bildet, die rasch in einzelne seidenglänzende lange Nadeln übergeht (Photos im Original). Krauts Reagens und Quecksilber(II)-chlorid ergeben keine Fällungen, bei Anwendung von Pikrinsäure und Styphninsäure entstehen bei beiden Alkaloiden amorphe Massen. Die papierchromatographische Trennung nach der Technik von R. Munier und M. Macheboeuf[3] bzw. A. S. Curry und H. Powell[4] ergibt bei Anwendung der Entwicklungs-

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1955**, 642—644. Univ. Tübingen.

[2] J. Pharmacy Pharmacol. **7**, 527—532 (1955). North-Western Forensic Sci. Lab., Preston (USA).

[3] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **31**, 1144 (1949); **33**, 846 (1951); vgl. diese Z. **135**, 356 (1952); **137**, 120 (1952/53).

[4] Nature (London) **173**, 1143 (1954); vgl. diese Z. **145**, 317 (1955).

systeme A) n-Butanol(Bt)-Salzsäure (100:2), wassergesättigt. B) n-Bt-Eisessig (10:1), wassergesättigt und C) n-Bt-Citronensäure (100:1), wassergesättigt, die folgenden R_f-Werte: für I: 0,59, 0,46, 0,22; für II: 0,68. 0,70, 0,39. Röntgenbeugungsaufnahmen der beiden Stoffe sind im Original abgebildet. K. Söllner

Codeinphosphat bestimmt man nach E. Adamová und J. Zýka[1], indem man das Phosphat aus der wäßrigen Lösung mit einem gemessenen Überschuß an $MgSO_4$-Standardlösung als Magnesiumammoniumphosphat ausfällt, abfiltriert und den Mg-Überschuß im Filtrat in bekannter Weise mit Komplexon III-lösung gegen Eriochromschwarz T als Indicator titriert. Die Methode bewährt sich zur Bestimmung von Codeinphosphat in Tabletten, Ipecarintropfen und Harburn-Pulver neben Pilocarpin, Emetin- und Ephedrinchlorhydrat, Extr. Thymi oder Appetitreglern. 1 ml 0,05 m Komplexon III-lösung entspricht 0,0212 g $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot 1\frac{1}{2}\ H_2O$. Die Fehler betragen bei 10—20 mg Einwaage $\pm$ 1%. H. Kurtenacker

Über die Isolierung und den Nachweis verschiedener Alkaloide in der Herbstzeitlose berichten V. Delong, J. Havrliková und F. Šantavý[2]. Neben der Isolierung mit Hilfe einer Aluminiumoxydsäule[3] wird ein papierchromatographischer Nachweis empfohlen. Als Lösungsmittel dient ein Gemisch von Propylen-Wasser-Aceton (3 : 1 : 12), als Entwicklungsflüssigkeit eine Lösung von Benzol-Chloroform (maximal 50% Chloroform) nach Reichstein, oder nach Jung eine 30%ige alkoholische Formamidlösung (Methanol oder Äthanol) als Lösungsmittel und als Entwickler eine Mischung von Benzol-Chloroform. Zur Herstellung des Chromatogramms wird Whatman Nr. 1-Papier angewandt. Zur Untersuchung kamen Knollen, Samen, Blüten und Blätter verschiedener Herbstzeitlosearten. Die Herstellung des Extrakts erfolgte nach schon in früheren Arbeiten veröffentlichten Methoden[4]. Verff. veröffentlichen in Tabellen die R_f-Werte der verschiedenen isolierten Substanzen und vergleichen die Ergebnisse der einzelnen Colchicumarten untereinander. Doris Heiligmann

W. Poethke und H. Trabert[5] beschreiben die *Bestimmung geringer Mengen von Strychnin, Brucin, Atropin und Hyoscyamin* unter Anwendung des bereits früher[6] ausgearbeiteten Fällungsverfahrens mit Kaliumjodowismutatlösung. Da, wie Verff. an Hand der in zahlreichen Tabellen zusammengestellten Befunde vieler Vorversuche darlegen, die Konzentration des Alkaloides, die Menge des Säure- und Reagenszusatzes, die Höhe der Fällungstemperatur, die Wartezeit bis zur Filtration und die Trockenzeit der Alkaloidjodowismutatfällung deren Zusammensetzung beeinflussen, müssen die angegebenen Analysenbedingungen genau eingehalten werden. — *Ausführung.* 20 ml der 1—30 mg eines der genannten Alkaloide enthaltenden, an Schwefelsäure normalen Lösung versetzt man mit 5 ml Fällungsreagens[6], läßt 3—4 Std unter gelegentlichem Umschwenken bei Raumtemperatur stehen und filtriert durch einen Glassintertiegel 1 G4. Nach dem Auswaschen mit je 3 ml der Waschflüssigkeiten W_1 (für Strychnin und Brucin) bzw. W_2 (für Atropin und Hyos-

[1] Československ. Farmac. 4, 9—10 (1955) [Tschechisch]. Mit engl. Zus.fass.]. Univ. Prag.

[2] Ann. pharmac. franç. 13, 449—454 (1955). Univ. Olomouc (Olmütz) (ČSR).

[3] Reichstein, T., and C. W. Shoppee: Discuss. Faraday Soc. 7, 305 (1949). — von Euw, J., A. Lardon und T. Reichstein: Helv. chim. Acta 29, 1292 (1944).

[4] Šantavý, F.: Chem. Listy 42, 177 (1948). — Šantavý, F., Z. Hoscalková, R. Podivinský und H. Potěšilová: Collect. czechoslov. chem. Commun. 19, 1289 (1954).

[5] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 94, 219—235 (1955).

[6] Poethke, W., und H. Trabert: vgl. diese Z. 139, 315 (1953).

cyamin) trocknet man den Filterrückstand 1 Std bei 105° C und wägt. Die Waschflüssigkeiten W_1 und W_2 enthalten 10 bzw. 25 ml 0,5 n KJ-Lösung und einige Milligramm $NaHSO_3$ in 500 ml. — Zur maßanalytischen Bestimmung löst man den feuchten oder trockenen Niederschlag nach dem Absaugen und Waschen in 30 ml kalter (bei Atropin oder Hyoscyamin) bzw. heißer (bei Strychnin oder Brucin) verdünnter Salzsäure, spült mit 30 ml Wasser nach und gibt 5 ml Cyanid-Stärkelösung[1] zu. Man titriert langsam mit 0,05 n KJO_3-Lösung bis zum Verschwinden der Blaufärbung. Die Lösung kann mit 0,05 n Thiosulfatlösung nachtitriert werden, wobei der Verbrauch beider Lösungen übereinstimmen muß. Für die Berechnung der Alkaloidmengen aus den Analysenergebnissen sind im Original Gleichungen und Zahlentafeln angegeben. — Liegen nur 0,1—5 mg des Alkaloides vor, so füllt man 10 ml der 1 n Schwefelsäure enthaltenden Analysenlösung in ein tariertes Zentrifugenglas, setzt 1 ml Reagens D_2[2] zu, zentrifugiert nach 4—6stündigem Stehen, gießt die Flüssigkeit möglichst vollständig ab und verfährt weiter nach einer im Original beschriebenen maßanalytischen Technik. K. Söllner

Die von R. Goutarel, M. M. Janot, R. Mirza und V. Prelog[3] beschriebene *Trennung von Corynanthein und Dihydrocorynanthein* mittels des Craigschen Verteilungsverfahrens wird bei Vorliegen geringer Alkaloidmengen von A. Blumenthal, C. H. Eugster und P. Karrer[4] vereinfacht und beschleunigt. Hierzu wird der Kationenaustauscher Duolite C 10 mit der funktionellen SO_3H-Gruppe benutzt. Die als Salze vorliegenden Alkaloide werden adsorbiert und lassen sich auf Grund ihrer unterschiedlichen Basizität trennen. Das Corynanthein als die schwächere Base wird durch ammoniakalisches Äthanol zuerst eluiert. — Vorbereitung des Austauschers: Duolite C 10 in Na-Form wird zerrieben und gesiebt, die feinsten Anteile werden durch mehrfaches Dekantieren mit dest. Wasser entfernt. 3,3 g des Harzes verbleiben über Nacht in 10%iger NH_4Cl-Lösung, werden dann in das Glasrohr übergeführt, mit 200 ml 10%iger NH_4Cl-Lösung und schließlich mit dest. Wasser gewaschen. — Die freie Base wird in Äthanol—Wasser (1:1) gelöst, mit verd. Essigsäure schwach angesäuert und soviel Wasser zugesetzt, daß das Verhältnis Äthanol:Wasser 1:2 beträgt. Die Kolonne wird ebenfalls mit dem Äthanol-Wassergemisch vorgespült und dann die alkaloidhaltige Lösung langsam durchfiltriert. Darauf wird einmal mit Äthanol-Wasser sowie zweimal mit dest. Wasser gewaschen. Das in der Kolonne enthaltene Wasser wird durch reines Äthanol verdrängt. Die eigentliche Elution erfolgt mit ammoniakalischem Äthanol, wobei die einzelnen Fraktionen 5 oder 10 ml betragen. Nach ihrem Einengen werden unter Zusatz von Wasser bei 60° C die Alkaloide zur Kristallisation gebracht, alsdann ihr Gehalt an Corynanthein durch Mikrohydrierung (Pd-Kohle, 30% Pd) bestimmt. — Präparativ wird eine Kolonne von 22 cm Höhe und 4 cm Durchmesser mit 3 g rohem Corynanthein beschickt und mit 0,02%igem ammoniakalischem Äthanol eluiert (1 ml/min). Die erhaltenen Fraktionen werden in 10 gleiche Teile geteilt, die erste und zweite abgetrennt, die übrigen acht vereinigt, nochmals auf die alkalifrei gewaschene Säule gebracht, sodann wiederholt in gleicher Weise verfahren. Die vereinigten ersten beiden Anteile enthalten $^3/_4$ des im Ausgangsmaterial enthaltenen Corynantheins. Um zu reinem Alkaloid zu gelangen, wird das gewonnene Material nochmals auf eine 18 cm hohe Säule gebracht und mit 0,02%igem ammoniakalischem Äthanol eluiert (0,5 ml/min). In fünf Fraktionen werden aus 500 mg Material 490 mg Alkaloid erhalten. Th. Breyhan

[1] siehe Fußnote [6] S. 214.

[2] Poethke, W., u. H. Trabert: Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **91**, 286 (1952).

[3] Helv. chim. Acta **36**, 337 (1953).

[4] Helv. chim. Acta **37**, 787—790 (1954). Univ. Zürich.

Die chromatographische Bestimmung des Alkaloids Galegin (4-Guanidino-2-methylbuten-2) ist nach J. Kaloušek, M. Kutáček und J. Bílek[1] eindimensional auf Whatman-Papier Nr. 4 mit Isopropylalkohol in wasserdampfgesättigter Atmosphäre möglich. Die Färbung des Chromatogramms erfolgt durch Tauchen in modifiziertes Sakaguchi-Reagens, nämlich zunächst in 0,1%ige acetonische Lösung von 8-Oxychinolin und nach dem Trocknen in eine Lösung von 0,2 ml Brom in 100 ml 0,5 n Natronlauge, wobei sich die Flecken ziegelrot färben. Im UV-Licht fluoresciert Galeginsulfat nicht. Sein R_f-Wert ist 0,75. — In Extrakten der Samen findet man noch eine andere Substanz vom R_f-Wert 0,65, die noch nicht identifiziert ist und sich mit Sakaguchi-Reagens heller rot färbt. Die Nachweisgrenze für Galegin liegt bei 3 μg. 5 μg geben einen sehr deutlichen Fleck. H. Kurtenacker

W. H. McMullen, H. J. Pazdera, S. R. Missan, L. L. Ciaccio und T. C. Grenfell[2] besprechen *die physikalischen Konstanten und die Methoden zur quantitativen Bestimmung von Reserpin* (Rp). Sein Schmelzpunkt schwankt je nach den angewandten Methoden zwischen 262—263° C und 277—277,5° C, wobei die Substanz bei 250° C dunkle Rotfärbung annimmt. Durch Beimengungen von Reserpsäure (RS) wird der Fp um etwa 20° C, durch Trimethoxybenzoesäure (TBS) um rund 80° C herabgesetzt. Die optische Drehung $[\alpha]_D^{25}$ beträgt für 1%ige Lösungen in Chloroform — 117 bis — 118°, in verdünnter Essigsäure — 100° und in Dioxan — 125°. Die quantitative Bestimmung von Rp kann durch Aufnahme seines UR- oder UV-Spektrums erfolgen. Letzteres entspricht weitgehend der Addition der Spektren seiner Komponenten RS und TBS, in die das Rp sich leicht spaltet. — *Arbeitsweise.* Man löst eine genau gewogene Probe von 10 mg Rp in 50 ml Chloroform und schüttelt diese Lösung mit dem gleichen Volumen 0,01 n Salzsäure aus, wodurch die RS in die wäßrige Phase gelangt. Bei einer weiteren Ausschüttelung der $CHCl_3$-Lösung mit 1%iger $NaHCO_3$-Lösung erhält man TBS in die wäßrige Schicht. Durch Vergleich der Extinktion der $CHCl_3$-Lösung bei 295 mμ und 268 mμ mit der nach analogem Verfahren erhaltenen Eichkurve ist eine Rp-Bestimmung möglich (UV-Absorptionskurven und weitere Meßverfahren im Original). — Die *papierchromatographische Trennung* des Rp von anderen Rauwolfia-Alkaloiden oder von Beimengungen läßt sich nach folgenden Verfahren durchführen. Whatman Nr. 4-Papier (etwa 17 × 55 cm) tränkt man während 5 sec mit 50 ml Propylenglykol, das mit Methanol auf 100 ml verdünnt ist und einen Zusatz von 1 ml Eisessig enthält, (frisch bereiten!) und trocknet es zwischen Filtrierpapier ab. Nach Auftragen einer Lösung von 0,5 bis 1,0 mg Rp in Form eines Streifens unter Stickstoff entwickelt man 6 Std lang absteigend mit einer propylenglykolgesättigten Mischung gleicher Volumina Benzol und Cyclohexan. Die ohne künstliche Erwärmung an der Luft getrockneten Chromatogramme lassen das Alkaloid bei Bestrahlung mit UV-Licht von etwa 390 mμ durch seine starke Fluorescenz erkennen, wobei die Anwesenheit anderer Komponenten durch weitere fluorescierende Streifen feststellbar ist. Die markierten Streifen extrahiert man nach dem Ausschneiden und nimmt die UV-Spektren ihrer Lösungen auf.

R. E. Booth[3] benützt zur *Bestimmung des Reserpin* (Rp)*-Gehaltes pharmazeutischer Zubereitungen* dessen anderen Alkaloiden[4] ähnliche Fähigkeit, mit Bromphenol-

[1] Československ. Farmac. **4**, 188—190 (1955) [Tschechisch]. Landwirtsch. Hochsch. Prag.

[2] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit., **44**, 446—453 (1955). Chas. Pfizer & Co., Inc.

[3] J. Amer. parmac. Assoc., sci. Edit., **44**, 568—570 (1955). Upjohn Co., Kalamazoo, Mich. (USA).

[4] Durick, F., u. Mitarb.: J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **39**, 680 (1951); vgl. diese Z. **137**, 302 (1952/53).

blau (BPB) im Verhältnis 2:1 einen Komplex zu bilden, dessen Lösung in Chloroform bei 402 mμ ein Lichtabsorptionsmaximum besitzt. — *Reagentien.* A) *Farbstofflösung.* 200 mg BPB löst man in 30 ml Wasser und 6 ml 0,1 n Natronlauge und verdünnt mit Wasser auf 250 ml. B) Pufferlösung. 10,93 g wasserfreies Na_2HPO_4 und 10,98 g wasserfreie Citronensäure löst man in Wasser auf 1 Liter (p_H 4). C) Standard-Rp-Lösung. 25 mg Rp löst man in Chloroform und verdünnt damit auf 200 ml. 20 ml dieser Lösung füllt man mit $CHCl_3$ auf 200 ml auf (nur 3 Tage haltbar; 1 ml enthält 0,0125 mg Rp). D) 10%ige Lösung von Na_2HPO_4 in ionenfreiem Wasser. — *Ausführung.* In vier 125 ml-Scheidetrichter (I—IV) gibt man je 20 ml Lösung B und 5 ml Lösung A. Zu I setzt man 5 ml der Analysenlösung (mit etwa 0,25 mg Rp) und 50 ml $CHCl_3$, in II gibt man nur 50 ml $CHCl_3$, III wird mit 15 ml Lösung C und 35 ml $CHCl_3$, IV mit 25 ml Lösung C und 25 ml $CHCl_3$ versetzt. Nach je 3 min langem Schütteln und Absetzen läßt man die organischen Schichten in je einen Erlenmeyer-Kolben ab und extrahiert I nochmals mit 50 ml $CHCl_3$. Schließlich ermittelt man von den 5 $CHCl_3$-Extrakten in einer 1 cm-Zelle die Extinktion bei 402 mμ und vergleicht die Summe der beiden Werte von I nach Abzug des Leerwertes von II mit der aus den Resultaten von III und IV erhaltenen Standardkurve. Um den Anteil der durch Spaltung von Rp entstandenen *Reserpsäure* zu ermitteln, schüttelt man ein Gemisch von 5 ml der Probelösung und 10 ml Lösung D mit 25,15 und 10 ml Chloroform aus, füllt die vereinigten Auszüge auf 50 ml auf, wiederholt die Ausschüttelung mit 2 mal je 25 ml $CHCl_3$ und behandelt schließlich beide Chloroformlösungen nach dem obenbeschriebenen Verfahren mit den Lösungen A und B. Die Differenz der hierbei erhaltenen Summe der Extinktionen von der Extinktion von I ergibt die Menge der aus Rp abgespaltenen Reserpsäure. Rp-haltige Tabletten und Verreibungen löst man in Wasser, versetzt die Lösung mit dem gleichen Volumen Lösung D, schüttelt mit $CHCl_3$ aus und verfährt mit dieser Ausschüttelung weiter nach der beschriebenen Methode. K. Söllner

In einer Studie der Zersetzung des Cinchocains identifizierte J. Vacek[1] mit Hilfe der Papierchromatographie und Polarographie als Produkte der sauren Hydrolyse des Cinchocains (*2*-Butoxy-cinchoninsäure-*β*-diäthylaminoäthylamid) das *Diäthylaminoäthylamid der 2-Oxycinchoninsäure* (I) (bei einigen älteren Injektionslösungen) und die *2-Oxycinchoninsäure* (II). In der Clark-Lubs-Pufferlösung (p_H = 5,8) besitzen I und II die Halbwellenpotentiale —1,11 bzw. —1,25 V (gegen die gesätt. Kalomelelektrode). Die Stufenhöhe von II ist von der Diffusion abhängig. Der Zusammenhang zwischen der Wellenhöhe und Konzentration in dem studierten Umfange hat sich als linear erwiesen; das Zersetzungsprodukt kann also neben dem Cinchocain polarographisch bestimmt werden. Die Zersetzung ist durch Erniedrigung der Toxicität und der lokalanaesthetischen Wirkung charakterisiert. Z. Stejskal

Bestimmung von Insulin. *Zur Bestimmung von freiem Insulin in der überstehenden Flüssigkeit von Injektionspräparaten von Protamin-Zink-Insulin* vergleicht M. Voldan[2] die Retentionsanalyse nach Th. Wieland und E. Fischer[3] sowie das chromatographische Trennungsverfahren mit colorimetrischer Auswertung mit dem biologischen Mäusetest. — Beim Vorgehen nach Wieland-Fischer trennt man zunächst chromatographisch auf und schneidet den Streifen mit den Protaminzonen ab. Dann taucht man den Streifen mit den Insulinflecken in 1%ige wäßrige

[1] Československ. Farmac. **4**, 6—7 (1955) [Tschechisch]. Staatl. Inst. f. Arzneimittelkontrolle Prag.

[2] Československ. Farmac. **4**, 125—126 (1955) [Tschechisch]. (M. engl. Zus.fass). Staatl. Inst. Arzneimittelprüfg.

[3] Naturwissenschaften **35**, 29 (1948); vgl. diese **Z. 135**, 63 (1952).

Erythrosinlösung, die 5% Glycerin enthält. Wenn die Farblösung 6 cm vorgeschritten ist, vergleicht man die Flächen, die durch Retention entstanden sind, mit den durch Insulin bekannter Stärke verursachten Flächen. Die Werte sind wegen der subjektiven Ausmessung der erhaltenen Keile ungenau. Das Verfahren ist nur zur schnellen Orientierung geeignet. Bessere Werte werden erzielt, wenn man die chromatographisch erhaltenen Flecken colorimetrisch auswertet. Dazu werden die Flecken mit 2%iger Bromphenolblaulösung gefärbt und bei 100° C in Ammoniakdampf getrocknet. Hierauf extrahiert man mit einem Gemisch von 1 Teil Methanol und 1 Teil 6%iger Na_2CO_3-Lösung 45 min lang und photometriert bei 570 mμ. — Die Ergebnisse stimmen mit dem biologischen Test gut überein.

In einer weiteren Mitteilung über die *Wertbestimmung von Insulin-Injektionsflüssigkeiten* beschreibt M. Voldan[1] die chromatographische Arbeitsweise und gibt auch ein polarographisches Verfahren an. — Die *chromatographische Abtrennung* erfolgt absteigend auf Whatman-Papier Nr. 4 mit Amylalkohol-Butanol-Eisessig-Wasser (0,6:2,4:1:3,5) unter Zugabe von 1% Amylacetat in die Butanolschicht. Insulin hat einen R_f-Wert von 0,35—0,45. Als Färbungsreagens dient eine 1%ige Lösung von Bromkresolgrün in 1%iger wäßriger Sublimatlösung. Man hellt den Untergrund durch 4maliges Waschen mit 2%iger Essigsäure auf und bedampft das Chromatogramm 6 Std mit Ammoniak. Die Auswertung kann unmittelbar auf dem mit Paraffinöl aufgehelltem Papier durch Farbmessung bei 610 mμ erfolgen. Die Ergebnisse sind aber unbefriedigend (Fehler bis 20%). Genauere Zahlen erhält man durch Eluieren der Flecken mit 8%iger Na_2CO_3-Lösung in 50%igem Methanol, die man 30 min einwirken läßt. Die erhaltene Lösung wird bei 610 mμ photometriert. Bei diesem Verfahren beträgt die Streuung der Werte nicht mehr als $\pm$ 0,5 i.E. — Die *polarographische Bestimmung* erfolgt nach dem Verfahren von H. Wiele und N. Gerlich[2] in einer Grundlösung aus 0,00064 n $CoCl_2$, 0,1 n NH_4OH und 0,1 n NH_4Cl, wobei die Polarogramme durch Vergleich mit bekannten Insulinmengen ausgewertet werden. Die Ergebnisse weichen im Mittel nicht von denen der Tierversuche ab.

Für die Prüfung von Insulin auf Reinheit ist nach Z. Pádr, J. Urbánková und S. Jehlička[3] die Ringpapierchromatographie zu empfehlen. Auf Papierscheiben von 30 cm ⌀ aus Whatman-Papier Nr. 1 werden die Proben auf einem Kreis von 15 mm ⌀ aufgetragen. Ein geeignetes Lösungsmittelgemisch ist n-Butanol-Eisessig-Wasser (3:1:3), in welchem aber ohne Verschlechterung des Erfolges n-Butanol durch Isopropanol oder Isobutanol, Essigsäure durch Ameisensäure ersetzt werden können. Ein Zusatz von wenig Trichloressigsäure verbessert die Resultate. Nach etwa 36 Std werden die Flecke mit Bromphenolblau sichtbar gemacht. — Von den untersuchten Insulinpräparaten des Handels erwiesen sich nur wenige als rein, die meisten hinterließen am Startpunkt einen mehr oder weniger deutlichen Fleck. H. Kurtenacker

Zum Nachweis des Kathepsins in Pepsin und Pepsinwein benutzt K.-H. Meinecke[4] Aktivitätsmessungen, die bei höherer Temperatur zur Ausschaltung der Pepsinwirkung durchgeführt wurden. Das Optimum der Kathepsinaktivität liegt bei 63° C. Als Substrat diente 10%ige Gelatinelösung, als Enzym Pepsinpulver amerikanischer Herkunft (1:10000) und Pepsinwein DAB 6 von Blücher-Schering & Co.,

[1] Českoslov. Farmac. **4**, 407—409 (1955) [Tschechisch].

[2] Biochem. Z. **320**, 440 (1950).

[3] Českoslov. Farmac. **4**, 311—313 (1955) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. f. Pharmazie u. Biochem. Prag.

[4] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1954**, 190—191. Hamburg.

Lübeck. Der p_H-Wert bei den Versuchen lag zwischen 2,2—4,6 (Kathepsinaktivitätsmaximum). Die p_H-Messungen wurden 24 Std nach Beginn der Versuche mit dem LANGE-Acidometer (Kalomelelektrode - Glaselektrode) vorgenommen. Zur Prüfung der Proteolyse wurden in Proben der Lösung nach 4 und nach 24 Std sowie nach 7 Tagen durch Formoltitration nach SÖRENSEN die gebildeten freien Aminogruppen bestimmt. Die durch die Salzsäure auftretende Säurehydrolyse wurde an enzymfreier Lösung kontrolliert und vom Gesamtwert abgezogen. Es ergibt sich nach Umrechnung die durch Kathepsin bewirkte Zunahme des Aminostickstoffs in Promille des Gesamtstickstoffs der Gelatine (17,86%) in Abhängigkeit vom p_H-Wert. Die abgebildeten Kurven zeigen für den Pepsinwein etwa dieselbe Kathepsinwirkung (Maximum der Aktivität bei p_H 3,3) wie für das untersuchte Pepsinpulver 1:10000.

HILDEGARD ZIMMERMANN

Zur Bestimmung von Antihistaminpräparaten (Derivaten von Dimethylaminoäthan) ist nach T. KASHIMA[1] die *Titration mit Perchlorsäure in wasserfreier essigsaurer Lösung* zu empfehlen. Der Endpunkt der Titration kann potentiometrisch mit Glas-Kalomelelektroden oder visuell mit Kristallviolett als Indicator festgestellt werden. Hydrochloride titriert man nach Zugabe eines Überschusses an Quecksilber(II)-acetat[2], Anergenhydrochlorid kann jedoch auf diese Art nicht bestimmt werden. *Doxylaminsuccinat* und die *Maleate von Pyrilamin* sowie *Chlorprophenpyridamin* können direkt titriert werden. Je 1 Mol Antihistamin verbraucht bei *Diphenhydraminhydrochlorid* und *Anergenhydrochlorid* je 1 Mol $HClO_4$, bei *Doxylaminsuccinat, Chlorprophenpyridaminmaleat, Tripelennaminhydrochlorid, Pyrilaminmaleat* und *Thonzylaminhydrochlorid* je 2 Mole $HClO_4$. Aus dem Verlauf der Titrationskurven kann geschlossen werden, daß Doxylamin etwas stärker basisch ist als Diphenhydramin, Pyrilamin ist schwächer als Tripelennamin, Chlorprophenpyridamin ist die schwächste Base. A. KURTENACKER

4. Analyse von biologischem Material

Literatur. H. APPELT: *Einführung in die mikroskopischen Untersuchungsmethoden*, 3. erweiterte Auflage. XII, 399 Seiten mit 425 teilweise farbigen Abbildungen im Text. Akademische Verlagsgesellschaft, Geest & Portig, Leipzig 1955. Preis 24,50 DM.

Wie der Verf. schon im Vorwort zur ersten Auflage betont, wendet sich das Buch nicht an fachwissenschaftliche Kreise, sondern an den allgemein interessierten Leser. Es ist in übersichtliche Abschnitte gegliedert, die von Hell- und Dunkelfeldmikroskopie zur Phasenkontrast- und Fluorescenzmikroskopie und schließlich zur Elektronenmikroskopie führen. Einleitend werden ihnen jeweils kurze theoretische Erklärungen vorangestellt, zahlreiche praktische Beispiele werden zur mikroskopischen Untersuchungstechnik gegeben, ergänzt sowohl durch schematische Darstellungen als auch durch teils farbige Abbildungen von Mikrophotographien aus Histologie, Bakteriologie usw., — zum Vergleich unter verschiedenen Bedingungen aufgenommen (z. B. Hellfeld, Dunkelfeld, Phasenkontrast, schiefe Beleuchtung usw.). Durch die bildliche Wiedergabe zahlreicher moderner Mikroskopmodelle und Zubehörteile in- u. ausländischer Herstellerfirmen (z. B. Zeiss, Leitz, Reichert, Watson usw.), sowie die jedem Abschnitt angefügten Literaturhinweise, wird das Buch auch dem Fachmann manche Anregung geben können.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 332—335 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) National Hygienic Labor., Tokyo (Japan).

[2] PIFER, C. W., u. E. G. WOLLISH: vgl. diese Z. **138**, 55 (1953).

Th. Bersin: *Kurzes Lehrbuch der Enzymologie*, 4. verbess. Auflage. XI, 336 Seiten mit 44 Abbildungen. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig, Leipzig 1954. Preis geb. 19,20 DM.

Das Buch wendet sich an den Wissenschaftler und Praktiker, aber auch an den Studenten und gibt in knapper Darstellung einen Überblick über die gegenwärtigen, gesicherten Erkenntnisse der Enzymologie (zahlreiche neuere Literaturangaben). Neben den theoretischen Grundlagen werden auch einige Hinweise zur praktischen Anwendung gegeben, wobei Chemie, Botanik, Zoologie u. Medizin berührt werden. Schematische Darstellungen von Reaktionsmechanismen (z. B. der alkoholischen Gärung, der Muskelkontraktion usw.) und Abbildungen kristallisierter Enzyme ergänzen das Besprochene anschaulich. R. Ritter

Zur papierchromatographischen Trennung flüchtiger Fettsäuren von C_1 bis C_6 in biologischem Material empfehlen J. Guillaume und R. Osteux[1] folgendes *Verfahren*: Das durch Wasserdampfdestillation gewonnene Säuregemisch, das etwa ein Millimol betragen soll, wird nach Auffangen in überschüssiger Sodalösung auf 1 ml eingeengt. Durch Behandlung dieses Konzentrates mit „Permutit 50", von dem 1 g die Na-Ionen von 3,5 ml n Natronlauge bindet, und Nachspülen mit Wasser erhält man 5—10 ml der reinen Säurelösung, die mit n Morpholinlösung mit Kresolrot als Indicator neutralisiert wird. Von dieser Lösung bringt man die einem Anteil von 5—80 μg jeder Säurekomponente entsprechende Menge auf ein 57×46 cm großes Whatman-Papier Nr. 3 und entwickelt mit a) Benzol—Propylenglykol—Isopropanol—Ammoniak (22° Bé)—Wasser (30:10:20:0,6:3), b) Benzylalkohol—Cyclohexan—Propylenglykol—Isopropanol—Ammoniak—Morpholin—Wasser (30:10:10:20:0,7:0,07:3,5) oder c) Butanol—Cyclohexan—Propylenglykol—Ammonioak—Morpholin—Wasser (30:30:10:0,7:0,7:3,5). Durch Besprühen der lufttrockenen Chromatogramme mit einer mit Veronalnatrium gepufferten, 0,2%igen alkoholischen o-Kresolphthaleinlösung erhält man die Säuren als gelbe Flecken auf granatrotem Grunde. Die Abtrennung der Iso- von den Normalsäuren gelingt mit d) der oberen Phase von mit 1,5 n Ammoniak gesättigtem Benzylalkohol, dem 1‰ Morpholin zugesetzt ist. Bei der Entwicklung mit den Systemen a, b, c und d ergeben sich folgende R_f-Werte (die Werte für das System d sind auf Valeriansäure bezogen, deren R_f = 1 gesetzt wurde): *Ameisensäure* 0,41; 0,23; 0,29; 0,17; *Essigsäure* 0,50; 0,29; 0,36; 0,20; *Propionsäure* 0,59; 0,40; 0,49; 0,36; *Buttersäure* 0,68; 0,52; 0,62; 0,61; *Isobuttersäure* —; 0,51; 0,61; 0,51; *Valeriansäure* 0,74; 0,58; 0,70; 1,00; *Isovaleriansäure* —; 0,56; 0,67; 0,82 und *Capronsäure* 0,79; 0,66; 0,80; —. Bei einer Erfassungsgrenze von 5 μg ist das Verfahren besonders für die Untersuchung von Bakterienkulturen geeignet. K. Söllner

Den Glykogengehalt von Frischleber bestimmt man nach L. Gyermek und G. Fekete[2], indem man in einem tarierten Mörser, der 2 ml 10%ige Trichloressigsäurelösung (TCE) enthält, 2—3 g Leberprobe bringt, nachtariert. TCE im Verhältnis 1 ml : 1 g nachfüllt und die Organprobe fein zerreibt. Dann fügt man eine gemessene Menge physiologischer Kochsalzlösung zu, homogeniert und filtriert. 1,2 ml des Filtrates werden mit 1,5 ml Alkohol versetzt. Die nach Umschütteln und 3stündigem Stehen entstandene Trübung bestimmt man nephelometrisch mit vorgeschaltetem Gelbfilter, wobei die Verdünnung von 1,2 ml Filtrat mit 1,5 ml Wasser zur Ermittlung des Blindwertes dient. Die Vergleichskurve erhält man durch analoge Behandlung verschieden konzentrierter Lösungen käuflichen Glykogens. (Einzelheiten werden in Acta Physiologica Acad. Sci. Hung. veröffentlicht.) K. Söllner

[1] C. R. Acad. Sci. (Paris) **241**, 501—502 (1955).

[2] Nature (London) **175**, 386 (1955). Pharm.-Industr. Res. Inst., Budapest.

Zur Bestimmung von Salicylsäure im Blutserum verbesserte G. BARBEZAT[1] die Methode von BENGER[2], die darauf beruht, daß man das Serum mit Natriumwolframat und Schwefelsäure enteiweißt und im Filtrat die Salicylsäure auf Grund der Färbung mit Eisen(III)-salz bestimmt. Der Überschuß an Wolframat wirkt bei dieser Arbeitsweise störend. Die Störung kann nach den Versuchen von BARBEZAT[1] vermieden werden, wenn man der Lösung zur Bindung des Wolframats einen *Überschuß* an Eisen(III)-salz in einer mit Monochloressigsäure gepufferten Lösung (p_H 2,5) zugibt. Das Verfahren wird dadurch aber in der Durchführung etwas umständlich, weshalb der Verf. schließlich eine Extraktionsmethode empfiehlt, die befriedigende Werte liefert (max. Fehler 2—4%). Sie wird wie folgt ausgeführt: Man versetzt 1 ml Serum mit 1 ml Wasser, 0,5 ml 5 n Salzsäure und 25 ml Dichloräthylen, schüttelt 5 min kräftig und zentrifugiert. Dann entfernt man die wäßrige Phase mit einer Capillarpipette, entnimmt aus der neben dem Eiweißkuchen befindlichen Dichloräthylenphase 20 ml und schüttelt diese in einem Schliffkolben 5 min kräftig mit 10 ml einer Lösung, die 0,25 g $Fe(NO_3)_3 \cdot 9\,H_2O$ + 0,12 ml Salpetersäure (D 1,4) im Liter enthält. Nach erneutem Zentrifugieren mißt man die Farbintensität der wäßrigen Phase bei 530 mμ. Bei der Aufstellung der Eichkurve ersetzt man 1 ml Wasser (im Gemisch mit Serum) durch 1 ml Eichlösung. Zu deren Herstellung geht man von einer Stammlösung aus, die 0,5 g Salicylsäure + 3,5 ml n Natronlauge in 100 ml enthält. 10 ml davon werden auf 100 ml verdünnt und von dieser Lösung nimmt man 5—25 ml, die auf 25 ml Volumen gebracht werden. Sie enthalten 0,1—0,5 mg Salicylsäure je Milliliter.

A. KURTENACKER

Eine verbesserte Methode für die Messung von Salicylsäure und Salicylursäure im Blutplasma und ferner im Urin haben E. B. TRUITT jr., A. M. MORGAN und J. M. LITTLE[3] entwickelt; im Urin bestimmen sie zusätzlich noch die Salicylglucuronate. Die Bestimmung der Salicylursäure wird mit Hilfe eines Beckman-Spektrophotometers mit Fluorescenzeinrichtung durchgeführt unter Benützung der gleichen Lichtfilter wie für die Bestimmung des Thiaminhydrochlorids (Filterschwerpunkt für das Primärfilter 370 mμ, für das Sekundärfilter 460 mμ). Die Lösung wird auf p_H 10 eingestellt, bei welchem p_H-Wert die Fluorescenz der Salicylursäure wesentlich stärker ist als die der Salicylsäure. Es können so Mengen von 0,1 mg-% aufwärts bestimmt werden. Im Plasma ist auf diese Weise eine Substanz nachweisbar, welche offenbar Salicylursäure ist. — Einzelheiten der umfangreichen Bestimmungsprozedur zur Feststellung sämtlicher Komponenten, die Salicylsäure enthalten, mögen im Original eingesehen werden. J. EISENBRAND

Die ionophoretische Trennung von 4-Oxycumarin, 3-Äthyl-4-oxycumarin, 3-Phenyl-4-oxycumarin, „Dicumarin", Di(4-oxy-3-cumarinyl)-essigsäure und ihren Estern auf Papier untersuchte I. M. HAIS[4] hauptsächlich zu dem Zweck, um über die funktionellen Gruppen in dem Stoffwechselprodukt „70 Et" Auskunft zu erhalten, das man im Harn von Personen findet, die *Pelentan* appliziert erhielten. Es ergab sich, daß die Papierionophorese zur Kennzeichnung der 4-Oxycumarine geeignet ist. Ferner wurde festgestellt, daß das Stoffwechselprodukt 70 Et 3 dissoziierende saure Gruppen besitzt. Eine von ihnen dissoziiert bei sehr niederem p_H-Wert, ähnlich wie bei Pelentan, die zweite etwa im gleichen p_H-Bereich wie bei

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 83—88 (1955). Univ. Genf (Schweiz).

[2] Vgl. MLCZOCH, F., und E. TREML: Wiener klin. Wschr. **1950**, 274.

[3] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **44**, 142—148 (1955). A. H. Robins Co., Inc., u. Wake Forest College, Winston-Salem, N.C. (USA).

[4] Chem. Listy **49**, 709—716 (1955) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. f. Pharm. u. Biochem., Prag.

Pelentan, an die gleichzeitig die Dissoziation der dritten Gruppe anschließt. Die zweite und dritte Gruppe sind fast gleichstark sauer. In stark alkalischem Milieu wurde eine Dissoziation der dritten Gruppe bei der Di(-4-oxy-3-cumarinyl)-essigsäure nicht beobachtet. Der Vorteil der Papierionophorese liegt darin, daß sie die Dissoziationskonstanten bei Gemischen ohne Isolierung der einzelnen Bestandteile zu schätzen gestattet. Diese Möglichkeit wurde bei Analyse des Rohextraktes aus Menschenharn nach Einnahme von Pelentan ausgenutzt. — Wegen der Einzelheiten der Durchführung der Ionophorese sei auf die Originalarbeit verwiesen.

H. Freytag

Eine einfache Schnellmethode zur Bestimmung reduzierter Dehydro- und Gesamt-Ascorbinsäure in biologischem Material beschreiben R. R. Schaffert und G. R. Kingsley[1]. — *Ausführung. Gesamt-Ascorbinsäure.* 15 ml 6%ige Trichloressigsäure (TES)-Lösung werden in einem 50 ml-Kolben tropfenweise mit 5 ml *Blut* oder *Serum* unter ständigem Schütteln versetzt. Nach 5 min langem Stehen und 10 min langem Zentrifugieren mit 2500 U/min wird die überstehende Flüssigkeit in einem trockenen Glas mit $^1/_2$ Teelöffel Norit 1 min lang kräftig geschüttelt und durch ein Whatman-Filter Nr. 42 filtriert. — 1 ml *Urin* wird mit 10 ml 4%iger TES-Lösung und $^1/_2$ Teelöffel Norit 1 min geschüttelt und filtriert. — 2 g *Pflanzenmaterial* rührt man 5—10 min mit 98 ml 0,5%iger Oxalsäurelösung im Warring-Blendor. 20 ml des Filtrats werden wie beschrieben weiterbehandelt. 4 ml der Filtrate versetzt man in einer Photometerküvette mit 1 Tropfen 10%iger Thioharnstofflösung und 1 ml einer Lösung von 2 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 100 ml 9 n Schwefelsäure, erhitzt bei Blut 5 min, bei Urin oder Pflanzenauszügen 10 min im siedenden Wasserbad, gibt nach Kühlung mit Eis tropfenweise 5 ml 85%ige Schwefelsäure zu und mißt nach 10 min die Extinktion des gebildeten Farbstoffes im Coleman-Spektrophotometer bei 515 mμ gegen einen Blindansatz mit den Reagentien. *Dehydro-Ascorbinsäure.* Bei Anwendung des gleichen Verfahrens entfällt die Behandlung mit Norit. Die Differenz beider Werte ergibt den Gehalt an Ascorbinsäure. Die Fehlergrenze beträgt etwa 5%. In mehreren Tabellen geben Verff. die nach ihrem Verfahren gefundenen Werte für *Blut, Serum, Urin und mehrere Nahrungsmittel* an.

K. Söllner

Spektralphotometrie des Hämatoporphyrinchlorhydrates. Die Absorptionsbanden im Spektrum des Hämatoporphyrinhydrochlorids bei 4000 Å und im Bereich von 4500—6500 Å hängen nach Lage und Höhe nicht nur von der Natur des Lösungsmittels ab; sie sind überdies nach M. Legrand[2] unterschiedlichen zeitlichen Änderungen unterworfen. So nimmt in äthanolischer Lösung die Intensität der starken und scharfen Bande bei 4010 Å (Soret-Bande) innerhalb 36 Std im Licht bzw. im Dunkeln um 38% bzw. 35% ab. In salzsaurer Lösung dagegen steigt die Extinktion im Dunkeln um etwa 25% in 24 Std; bei Belichtung bleibt die Extinktion nahezu konstant (Zuwachs 1%). In schwefelsauren Lösungen steigt die Extinktion innerhalb 8 min um 10% und bleibt dann 50 Std stabil. Die genannten Veränderungen wurden bei 20° C gemessen. Der Extinktionskoeffizient hängt weniger von der Säurenormalität, als von der Ionenstärke der Lösung ab, er sinkt mit steigender Salzkonzentration aber nicht so sehr, daß es notwendig wäre, die Konzentration oder die Acidität der Lösung genau zu messen. In 0,5 n schwefelsaurer Lösung hat der auf 1%ige Lösungen und $d = 1$ cm bezogene Extinktionskoeffizient den Wert $\varepsilon_{1\,\mathrm{cm}}^{1\,\%} = 6300 \pm 50$. Das Beersche Gesetz ist im

---

[1] J. biol. Chemistry **212**, 59—68 (1955). Univ. Los Angeles, Calif. (USA).

[2] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 133—137 (1955). Services de recherches Roussel-Uclaf, Romainville (Seine), (Frankreich).

Konzentrationsbereich von 0,1—1 mg/l Hämatoporphyrin erfüllt. In schwefelsaurem Medium kann das *Hämatoporphyrinhydrochlorid* nach folgender Vorschrift bestimmt werden: Die Einwaage von p (etwa 5) mg löst man unter Umschütteln in einem mit Glasperlen beschickten Kolben in siedendem Äthanol, überführt die Lösung in einen 250 ml-Meßkolben und füllt mit Äthanol auf. Einen aliquoten Anteil von 2,0 ml verdünnt man unmittelbar anschließend in einem 100 ml-Meßkolben bis zur Marke mit 0,5 n Schwefelsäure. Man läßt dann 15 min im Dunkeln stehen und mißt danach die Extinktion bei 4010 Å gegen 0,5 n Schwefelsäure. Der Prozentgehalt (G%) der Probe an Hämatoporphyrinhydrochlorid wird aus der Extinktion E, der Einwaage p(mg) und der Schichtdicke wie folgt berechnet: $G = 1985 \cdot E / p \cdot d$(%). H. Specker

Über die Bestimmung der Abbauprodukte des Pyramidons: Rubazonsäure (I), 4-Amino-antipyrin (II) und 4-Acetylamino-antipyrin (III) im Harn berichten W. Hennig und H. Weiler[1]. I wird an Aluminiumoxyd adsorbiert und nach Elution mit ammoniakalischem Äthanol colorimetrisch bestimmt. In dem von I befreiten Harn wird II mit Phenol und Kaliumhexacyanoferrat(III) in einen colorimetrierbaren roten Farbstoff übergeführt[2]. Zur Bestimmung von III wird dieses durch saure Verseifung in II übergeführt und als solches bestimmt. — *Arbeitsweise.* 1. *Abtrennung und Bestimmung von I:* Der gesamte, auf I, II und III zu untersuchende Harn wird klar filtriert und über eine Säule von anionotropem Aluminiumoxyd C („Woelm") gegeben (für je 25 ml Harn etwa 8 g Al_2O_3). Man wäscht mit dem gleichen Volumen Wasser nach, eluiert I mit ammoniakalischem Äthanol p_H 8 (96 ml 96%iges Äthanol + 4 ml 25%ige Ammoniaklösung) bis zum Verschwinden der Violettfärbung und colorimetriert die Lösung mit Filter S 55. Das Beersche Gesetz gilt von 0,2—1,6 mg-% I, die Fehlergrenze beträgt ± 3%. — 2. *Bestimmung von II:* 5 ml des von I befreiten Harns werden mit 6 ml einer 2%igen Phenollösung versetzt und mit Ammoniak auf p_H 9,8—10,2 gebracht. Nach Zugabe von 8 ml einer 2%igen $K_3Fe(CN_6)$-Lösung schüttelt man sofort 2 mal mit 20 ml Chloroform aus, zentrifugiert und colorimetriert die gefärbte Chloroformlösung in einer 1 cm-Küvette mit Filter S 49 gegen reines Chloroform. Das Beersche Gesetz gilt von 0,2—1,6 mg-% II. Zur Ausschaltung von Störungen durch chloroformlösliche Harnbestandteile schüttelt man in einem Parallelversuch den Harn mit Chloroform aus und zieht die gegebenenfalls auftretenden Extinktionswerte vom Hauptversuch ab. Die Fehlergrenze ist ± 4%. — 3. *Bestimmung von III:* 5 ml des von I befreiten Harns werden mit 0,25 ml konz. Schwefelsäure versetzt und 20 min über freier Flamme am Rückflußkühler erhitzt. Nach dem Erkalten setzt man 10 ml 2%ige Phenollösung zu, bringt mit Ammoniak auf p_H 9,8—10,2 und oxydiert mit 14 ml 2%iger Kaliumcyanoferrat(III)-lösung. Man verfährt weiter wie unter 2. beschrieben und zieht von dem erhaltenen Wert (Gesamt-II) den vorher erhaltenen Wert an freiem II ab. Die Differenz ergibt, mit 1,20 multipliziert, die Menge von III. H. Sperlich

Zur gravimetrischen Bestimmung der Gesamtlipoide von Blutserum pipettiert man nach W. M. Sperry und F. C. Brand[3] in einen 8,3 ml reines Methanol enthaltenden 25 ml-Meßkolben 1 ml Serum oder Plasma langsam unter ständigem Umschwenken des Kölbchens. Nachdem man etwa das gleiche Volumen Chloro-

[1] Arzneimittel-Forsch. **5**, 60—61 (1955). Univ. Mainz.

[2] Emerson, E. J.: J. org. Chemistry **8**, 417 (1943); Ettinger, M. B., C. C. Ruchhoft and R. J. Lishka: Analyt. Chemistry **23**, 1783 (1951); vgl. diese Z. **139**, 57 (1953).

[3] J. biol. Chemistry **213**, 69—76 (1955). State Psychiatric Inst. und Columbia Univ., New York (USA).

form zugesetzt hat, erwärmt man im Wasserbad zum beginnenden Sieden, kühlt auf Raumtemperatur, füllt mit $CHCl_3$ bis zur Marke auf, mischt und filtriert. Die Reinigung der Fettlösung kann nach folgenden Verfahren durchgeführt werden: 1. 20 ml des Filtrates werden in eine Flasche von 2 cm ⌀ und 8 cm Höhe pipettiert, die Flasche wird mit Wasser völlig gefüllt und vorsichtig in ein Becherglas mit 1 l dest. Wasser gesenkt, wo sie 18 Std zur Diffusion stehen bleibt. Dann entfernt man mit einer VAN SLYKE-RIEBEN-Pipette die obere Schicht, gibt zu der Fettlösung 6 ml Methanol, bringt in einen 50 ml-Kolben und verdampft das Lösungsmittel im Vakuum in Stickstoffatmosphäre zur Trockne. — 2. 20 ml des Filtrates werden in einem 25 ml-Glasstopfenzylinder mit 4 ml Wasser 1 min kräftig geschüttelt. Nach Trennung der Phasen entnimmt man die obere Schicht möglichst vollständig. Nun schüttelt man 96,3 ml Chloroform—Methanol (2:1) mit 23,7 ml einer 20 mg-% enthaltenden $CaCl_2$-Lösung im Scheidetrichter kräftig durch und wiederholt die Reinigung der Fettlösung 2mal mit je 3 ml der oberen Schicht der Ausschüttelung. Nach Zusatz von 2 ml Methanol bringt man sie in einen 50 ml-Kolben, spült mit Chloroform-Methanolmischung nach und verdampft bei 35 bis 40° C im Stickstoffstrom zur Trockne. Der Trockenrückstand von 1. oder 2. wird in Chloroform-Methanolgemisch gelöst, getrocknet, filtriert, im Vakuum unter Stickstoff zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Durch Multiplikation mit 125 ergibt sich die Lipoidkonzentration in Milligramm/100 ml Serum.

K. SÖLLNER

Elektrophorese von Proteinen. *Die Elektrophorese an einer Kolonne* führen C. DUMAZERT, C. GHIGLIONE und M. BOZZI-TICHADOU[1] in folgender Weise aus: Entsprechend Abb. 1 wird das Niveaugefäß *m* (500 ml), mit der zur Trennung vorgesehenen Pufferlösung und einer Elektrode beschickt, mittels Schlauch mit der Säule verbunden, die bei 2,6 cm Breite insgesamt 15 cm hoch ist. Zunächst wird die Säule in der unteren Hälfte mit einem dicken Brei aus Cellulosepulver und Pufferlösung gefüllt. Nach dem Absitzen wird die überstehende Lösung bei geschlossenem Quetschhahn *P* durch Dekantieren entfernt. Dann werden 3 oder 4 kreisrunde Scheiben v_1 aus Chromatographierpapier aufgelegt, mit 0,5 ml Probelösung (z. B. Serum) beschickt und nach Öffnen von *P* so lange mit Pufferlösung versorgt, bis sie völlig durchtränkt sind. Bei wieder geschlossenem *P* wird die zweite Hälfte mit dem Brei gefüllt und 0,5 cm unter dem oberen Rand mit einer Papierscheibe v_2 bedeckt. Zwei 8,5 cm lange und 2,5 cm breite Streifen *f* werden dann mit ihren umgelegten halbkreisrunden Enden entsprechend der Abb. 1 auf der Säule gehalten und so über einen Kühler *R* gelegt, daß sie mit dem Streifen *e* in Berührung gelangen, an dem die zweite Elektrode anliegt, und über den eine Elution aus einem nicht abgebildeten Behälter erfolgen kann (7—10 ml je 30 min). Für die besondere Wirk-

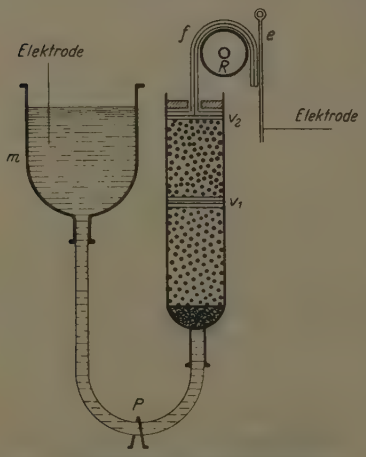


Abb. 1. Vorrichtung zur Protein-Elektrophorese nach DUMAZERT u. Mitarb.

[1] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 123—126 (1955). Fac. Méd. Pharm., Marseille.

samkeit dieser Anordnung ist maßgebend, daß die Trennung nach Anlegen des Stromes (400 V und 5 Milliamp.) zwar in üblicher Weise in der Säule vor sich geht, daß aber infolge der im Streifen besonders hohen Stromdichte eine Zone stark beschleunigt wird, sobald sie den Streifen erreicht. Diese verstärkte Trennwirkung macht sich vorteilhaft bemerkbar und wird ausgenutzt. Am Streifen *e* werden die eingewanderten Zonen laufend und automatisch eluiert.

K. E. Schulte und F. Müller[1] haben die *elektrophoretische Trennung von Proteinen* nach W. Grassmann, K. Hannig und M. Knedel[2] auf die Trennung von Proteinen der Milch angewendet. Die Elektrolyse erfolgt in Veronalnatrium-Oxalsäure-Pufferlösung vom p_H 7,9 und der Ionenstärke 0,1 auf 6 cm breiten und 48 cm langen Papierstreifen (Whatman Nr. 1 oder Schl. & Sch. 2043b) mit 170 V bei 20° C. In 16—18 Std werden gut aufgefächerte und gut reproduzierbare Pherogramme erhalten, wenn die Auftragung 10 cm von dem Kathodenende entfernt erfolgt. Der geringe Proteingehalt in Milchproben verlangt, daß die Auftragsmenge auf 0,26 ml heraufgesetzt wird, so daß die Flächenwerte der mit verstärkter Lichtquelle aufgenommenen Photometerkurven wohl als Vergleichswerte verwendet, nicht aber der Auftragsmenge proportional gesetzt werden können. Eingehend werden das Verhalten der Eiweißstoffe der Kuhmilch und der zugehörigen Molke bei der Elektrophorese, die Eigenschaften der 7 bzw. 8 erhaltenen Proteinfraktionen erörtert und eine Nomenklatur der Lactoglobuline vorgeschlagen.

In einer zweiten Arbeit[3] wird das gleiche Analysenverfahren auf die Untersuchung der Veränderung der Zusammensetzung der Milcheiweißstoffe in Kuhmilch zu Beginn der Lactationsperiode angewendet und schließlich in einer dritten Mitteilung[4] ein Vergleich zwischen Kuhmilch, Schafsmilch und Ziegenmilch, auch zwischen deren Molken gezogen, wobei so deutliche Unterschiede der Pherogramme beobachtet werden, daß auch die Feststellung der Beimischung von Schafs- oder Ziegenmilch zu Kuhmilch möglich ist. In Proben von Schafs- und Ziegenmilch ist die gegenüber Kuhmilch deutlich veränderte Beweglichkeit des β-Lactoglobulins besonders charakteristisch.

E. J. van Kampen und H. A. Zondag[5] berichten über Versuche zur *Standardisierung der quantitativen papierelektrophoretischen Serumanalyse* in dem Sinne, daß weitgehende Übereinstimmung der Resultate mit Analysen nach der freien Elektrophorese sichergestellt wird. Als *Arbeitsvorschrift* wird angegeben: Zunächst wird der 35 cm lange und 5,1 cm breite Streifen (Schl. & Sch. 2043b) lose aufgerollt und einige Minuten in Pufferlösung getränkt (1 g Diäthylbarbitursäure und 10,3 g Natriumsalz in 1 l, p_H 8,8) auf eine Bank gelegt. In einer Entfernung von 23 cm vom Papierende wird abgetupft zum Aufbringen der Substanzprobe, was mittels einer Auftragplatte erfolgt, an deren fettfreier Kante 0,04 ml leicht mit Azocarmin B angefärbtes Serum verstrichen sind. Die Platte wird zuerst mit der substanzfreien Schrägkante aufgelegt und dann in *einer* Bewegung lotrecht gestellt, ohne sie vom Papier zu lösen. Nach einigen Sekunden wird in umgekehrter Richtung auch wieder abgenommen. Nach Einlegen des Streifens in den Elektrophoreseapparat (E.e.l.) wird 5—10 min in der verkehrten Richtung elektrolysiert, so daß

[1] Milchwissenschaft **10**, 90—97 (1955). Freie Univ. Berlin und Lab. Odam-Milchwerk, Holzkirchen/Obb.

[2] Dtsch. med. Wschr. **76**, 333 (1951).

[3] Schulte, K., E. u. F. Müller: Milchwissenschaft **10**, 130—133 (1955).

[4] Schulte, K., E. u. F. Müller: Milchwissenschaft **10**, 228—232 (1955).

[5] Chem. Weekbl. **1955**, 535—543 [Holländisch]. Diakonissenhaus und Reichsuniv. Groningen (Niederlande).

eine scharfe, gefärbte Kante entsteht. Mit einer Stromstärke von 0,25 Milliamp./cm Papierbreite wird dann 11—12 Std elektrolysiert. Anschließend wird der Streifen frei hängend 5—10 min bei 105° C getrocknet und 10 min gefärbt in einem Bad, das 0,75 g Azocarmin B, 10 ml Eisessig und 50 ml Methylalkohol in 100 ml enthält. Mit 10%iger Essigsäure wird dann so lange gewaschen, bis die freien Stellen des Streifens farblos sind. Der Streifen wird nun abermals frei hängend bei 105° C getrocknet, und dann zur Photometrie mit Paraffinöl—α-Bromnaphthalin (1:1) transparent gemacht. Die Auswertung erfolgt mit dem „scanner" nach E. M. Crook, H. Harris, F. Hassan und F. L. Warren[1]. Die Überlagerungen der Banden werden eingezeichnet und die Photometerkurven planimetriert. — Der Gesamtalbumingehalt wird aus dem Reststickstoff nach der Kjeldahl-Methode mit HgO als Katalysator bestimmt. 0,5 ml Serum werden hierzu mit 7 ml Natriumsulfatlösung (280 g/l) 12—24 Std bei 37° C ausgesalzen, 2,5 ml werden zur Analyse verwendet. — Die Ergebnisse werden mit Paralleluntersuchungen nach der Tiselius-Methode[2] verglichen. Die Übereinstimmung mit der Aussalzmethode ist gut, wenn eine Endkonzentration von 261 g Na_2SO_4/l verwendet wird.

D. M. Schulz und M. A. Holdcraft[3] haben kritische Messungen zur *quantitativen papierelektrophoretischen Bestimmung von Serumproteinen*, insbesondere über die spektralphotometrische Analyse an mit Azocarmin B gefärbten Streifen ausgeführt. Es wird vor allem festgestellt, daß das Beersche Gesetz nicht erfüllt, die Absorption also der Konzentration nicht linear proportional ist und daß das Farbstoffbindevermögen von Albumin und Globulin verschieden, aber auch von dem Farbstoff, von der Dauer der Färbung und vom Alter der Farblösung abhängig ist. Die sehr unterschiedlichen Angaben des Globulinfaktors sind wenigstens teilweise durch eine Konzentrationsabhängigkeit dieses Faktors zu erklären, die festgestellt wird. Hinzu kommt, daß das Verhältnis von Albumin zu Globulin mit steigender Verdünnung des Serums sich dem photometrischen Befund nach scheinbar ändert und zwar steigt oder sinkt, je nachdem ob das Verhältnis größer oder kleiner als 1 ist. Nur unter Beachtung dieser Faktoren kann mit guter Reproduzierbarkeit photometrischer Auswertungen gerechnet werden.

C. A. J. von Frijtag Drabbe und J. G. Reinhold[4] berichten über *Verbesserungen bei der Papierelektrophorese von Serumproteinen* mit dem Elphor-Gerät nach Grassmann und anschließender densitometrischer Auswertung der Pherogramme. Es wird insbesondere hervorgehoben, daß scharfe Trennungen nur bei Temperaturen zwischen 1 und 10° C erhalten werden, daß ferner die Temperatur sorgfältig konstant zu halten ist, da geringe Temperaturunterschiede der beiden Elektrolytröge bereits die Reproduzierbarkeit beeinträchtigen, und daß die günstigste Arbeitsspannung bei 4 V/cm liegt, da höhere Spannungen eine schlechtere Trennung von Albumin und α_1-Globulin zur Folge haben. Beim Aufspannen der mit Pufferlösung getränkten Streifen (Whatman Nr. 1) muß besonders auf eine minimale und vor allem gleichmäßige Zugspannung geachtet werden, wenn sich die Wanderzonen unverzerrt ausbilden sollen. Vor allem muß vor dem Auftragen der Substanzprobe konditioniert werden (1 Std mit 4 V/cm), da sich diese Vorelektrolyse sehr vorteilhaft für die Reproduzierbarkeit auswirkt und die Schwanzbildung verringert. Damit die Probe ohne Unterbrechung der Elektrolyse auf dem Streifen aufgetragen werden kann, wird ein Papierstreifen in die Probelösung eingetaucht, an der Wand

[1] Biochemic. J. **56**, 434 (1954); vgl. diese Z. **146**, 151 (1954).
[2] Svensson, H.: Ark. Kem., Mineralog., Geol. **22**, 10 (1946).
[3] Lab. Invest. **4**, 262—274 (1955). Univ. Indianapolis, Ind. (USA).
[4] Analyt. Chemistry **27**, 1090—1095 (1955). Univ. Philadelphia, Pa. (USA).

abgestrichen und auf die gekennzeichnete Auftragsstelle aufgelegt, wo er während der Elektrolyse verbleibt. Die optimale Dosierung der Substanzmenge wird durch Auswahl einer entsprechenden Breite und Länge des Auftragsstreifens sichergestellt. Sie soll bei Sera mit 6—8 g Protein je 100 ml 2 und 40 mm betragen. Die aufgesogene Menge entspricht dann 8 μl Serum. Ist auch die Anfärbung des Albumins während der Elektrolyse erwünscht, so kann gleichzeitig ein mit Bromphenolblaulösung getränkter 0,5 mm breiter Streifen oder Baumwollfaden mit aufgelegt werden. Als günstigster Auftragsort wird bei 4 × 30 cm großen Streifen ein Abstand von 5 cm von der Mitte in Richtung auf die Kathode angegeben. Die Elektrolysedauer (16—18 Std) soll auf Wanderweiten von höchstens 9 cm beschränkt bleiben, da bei stärkerer Annäherung der Zonen an die in Pufferlösung eintauchenden Papierenden Unregelmäßigkeiten auftreten. Bei Abschalten des Stromes sollen daher auch die Streifenenden unverzüglich abgetupft bzw. entfernt werden. Auf die Einhaltung stets konstanter Trockenbedingungen wird besonders hingewiesen. Der freihängende Streifen soll unverzüglich horizontal 10 min bei 100° C getrocknet werden. Ungleichmäßige Trocknung hat unterschiedliche Farbstoffaufnahme zur Folge, wenn anschließend mit Amidoschwarz gefärbt wird. — Es wird gezeigt, daß bei Beachtung dieser Hinweise, Genauigkeiten erzielt werden, die mit derjenigen nach dem TISELIUS-Verfahren durchaus vergleichbar sind.

G. MEYNIEL und S. DE MENDE[1] haben *elektrophoretisch die Änderung der Zusammensetzung von Meerschweinchen- und Kaninchen-Blutserum* in Abhängigkeit von der Bestrahlung der Tiere untersucht und hierzu in der Anordnung von E. WIEDEMANN[2] in 1/15 m KH_2PO_4-Na_2HPO_4-Pufferlösung vom p_H 7,8 und bei der Ionenstärke 0,2 10—20 Std mit 4—5 V/cm elektrolysiert. Die Elektropherogramme werden photometrisch nach E. WIEDEMANN[3] analysiert, die Veränderung der Relativgehalte an Albumin und an Globulin mit der Bestrahlungsdosis (64 bis 1200 r/min) und Zeit wird aufgezeigt.

Folgende besonders zuverlässige Methode zur Anfärbung von Elektropherogrammen von Lipoproteinen auf Whatman-Papier Nr. 1 mit Sudanschwarz hat A. NYS[4] angegeben: Zur Färbung dient in der Hitze gesättigte Lösung von Sudanschwarz in genau 5%igem Alkohol, die nach dem Abkühlen 2—3 mal filtriert ist, so daß auf der Oberfläche keinerlei Film mehr zu beobachten ist. Bei Raumtemperatur wird dann 3 Std gefärbt. Gewaschen wird am besten mit je 100 ml 45—50%igem Alkohol in 2—3 Bädern je 15 min für jeden Streifen, auf dem sich 60—100 μl Serum bei 5 cm Papierbreite befinden. Zur Photometrie soll unverzüglich nach dem Färben eluiert werden. Bei Einhalten dieser Arbeitsweise ist gute Reproduzierbarkeit sichergestellt, vornehmlich bei Analyse auf α_1- und β-Lipoproteide.

K. CRUSE

Die Schnellbestimmung der Serumlipoide nach W. WEIGEL[5] beruht auf der Bestimmung des Glycerins, das als Maß für die Lipoidfraktionen Neutralfett, Lecithin und Kephalin dient. Das Glycerin wird in Methylglyoxal übergeführt, das mit Resorcin einen Farbstoff bildet. — *Glycerinbestimmung.* 2 ml der glycerinhaltigen Lösung (5—100 mg-% Glycerin) werden in einem Reagensglas mit Schliffstopfen mit 8 ml gesättigtem Bromwasser (1,5—2 ml Brom mit 100 ml Wasser gut durchschütteln und Bromüberschuß entfernen) gemischt und 30 min im Wasser-

[1] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 127—131 (1955). Institut de Biologie, Paris.
[2] Helv. chim. Acta **30**, 638 (1947).
[3] Helv. chim. Acta **30**, 892 (1947).
[4] Chem. Weekbl. **1955**, 643—644 [Holländisch]. Univ. Löwen (Belgien).
[5] Fette u. Seifen **57**, 486—490 (1955). Charité, Berlin.

bad verschlossen bei 90—95° C gehalten. Nach Abkühlen wird der Bromüberschuß im Vakuum entfernt. Man füllt die bromfreie Lösung mit dest. Wasser auf 10 ml auf und versetzt 2 ml davon mit 0,5 ml 10%iger KBr-Lösung und 5 ml konz. Schwefelsäure. Nach 5minutigem Erhitzen im Wasserbad (90—95° C) werden sofort 0,5 ml einer 4%igen Resorcinlösung hinzugegeben, worauf man nochmals 2 min lang erhitzt. Nach Abkühlen bleibt die Farbtiefe mehrere Stunden lang beständig. Sie wird im PULFRICH-Photometer mit Filter S 57 gegen dest. Wasser gemessen. — Bei der Serumanalyse wird die glycerinhaltige Lösung folgendermaßen bereitet: 2 ml Serum werden mit 20 ml Alkohol-Äther (3:1) 5 min lang am Rückflußkühler erhitzt und dann filtriert. Nach zweimaliger Wiederholung ist die Extraktion vollständig. Die vereinigten Auszüge werden nach Zugabe von 1 Tr. etwa 40%iger Natronlauge durch 10 min langes Kochen am Rückfluß verseift und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Nach Zugabe von 2 ml Wasser und 1 Tr. p-Nitrophenollösung wird bis zum Umschlag nach Farblos mit kleinen Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt, die gebildeten Fettsäuren werden durch Filtrieren entfernt. Der Kolben wird mit 1 ml heißem Wasser ausgespült und das Filtrat auf 4 ml aufgefüllt. Davon werden 2 ml für die Glycerinbestimmung verwendet. — Das Verfahren soll, wenn es auch nicht genauer ist als die bisherigen Methoden, bei Serienuntersuchungen gute Dienste leisten. L. ACKER

Trennung von Proteinen an einem Anionenaustauscher. H. G. BOMAN[1] zeigt an einigen Beispielen, daß gewisse Trennungen an einem *Anionenaustauscher* bei scharfer p_H-Kontrolle möglich sind. Als Austauscher wurde Dowex 2 (200 bis 400 mesh) in einer Säule von 18 × 1,5 cm angewendet. Der Austauscher wurde durch Waschen mit n NaCl-Lösung in die Chloridform übergeführt, nach dem Versuch mit n Salzsäure regeneriert und mit der Pufferlösung gewaschen, bis der p_H-Wert unverändert blieb. Als Puffersystem diente Trisoxymethyl-aminomethanhydrochlorid (Sigma Chemical Co. Tech. Bull. 106). Eluiert wurde mit Lösungen dieses Stoffes von stufenweise gesteigerter Konzentration (0,02 m bis 1 m), wobei aber der p_H-Wert stets auf 7,2 konstant gehalten wurde. Die Arbeiten wurden in einem kalten Raum bei 4° C durchgeführt. Als Beispiele werden die Trennung der *Eiweißstoffe und die Bestimmung der Phosphataseaktivität im Serum* eines Patienten mit Prostatakrebs und die *Untersuchung eines Handelsproduktes von menschlichem Serumalbumin* beschrieben und einige andere erwähnt. A. KURTENACKER

Zum Nachweis und zur halbquantitativen Bestimmung von Thyroxin und Trijodthyronin im Plasma kann nach N. F. MACLAGAN, C. H. BOWDEN und J. H. WILKINSON[2] das von den gleichen Verfassern[3] entwickelte papierchromatographische Verfahren dienen, bei dem die Flecken mit Hilfe von Cer(IV)-sulfat-Arsenigsäurereagens sichtbar gemacht und photometrisch bestimmt werden. Zur Extraktion der Jodverbindungen versetzt man 5 ml Plasma mit Methanol, um die Proteine zu fällen, verdampft die mit den Waschlösungen vereinigte überstehende Flüssigkeit unter vermindertem Druck und behandelt den Rückstand mit Trypsin in Phosphatpuffer bei p_H 7,5, um kleine Mengen Lipoprotein, die durch Methanol nicht gefällt wurden, zu zerstören. Die Lösung wird dann mit Salzsäure angesäuert, mit Methanol behandelt und zur Entfernung von Fett mindestens 4mal mit Petroläther extrahiert. Die wäßrig-methanolische Phase wird durch Zentrifugieren ge-

[1] Nature (London) **175**, 898—899 (1955). Univ. Uppsala (Schweden).

[2] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 633—636 (1955). Westminster Medical School, London.

[3] BOWDEN, C. H., N. F. MACLAGAN and J. H. WILKINSON: Biochemic. J. **59**, 93 (1955); vgl. diese Z. **149**, 236 (1956).

klärt, mit Ammoniak neutralisiert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird mit einem Gemisch von 0,02 n Salzsäure und Butanol geschüttelt und die wäßrige Phase noch zweimal mit Butanol ausgeschüttelt. Die vereinigten Butanolextrakte werden wieder unter vermindertem Druck eingedampft. Der Rückstand wird in 0,02 n Salzsäure in Butanol gelöst, quantitativ auf das Chromatographiepapier übertragen und nach den früheren Angaben[1] weiter behandelt. Bei Zusatzversuchen von 0,1 μg Thyroxin und 0,1 μg Trijodthyronin zu 5 ml Plasma wurden Flecken erhalten, die nach Größe und Lage solchen entsprachen, die sich mit Radiothyroxin ergaben. Bei diesen betrug die Ausbeute etwa 90% der zugesetzten Menge. — Für alle Arten Plasma ist das Extraktionsverfahren aber nicht geeignet.

H. Sperlich

Zur Bestimmung der Gamma-Globulinfraktion im Serum ist nach umfangreichen vergleichenden Untersuchungen von M. J. Schulte[2] der Sublimattrübungstest nach M. Keler-Bačoka und D. Mikac-Dević[3] dem Sublimattiter vorzuziehen. Beide Teste haben nur orientierende Bedeutung; bei dem objektiven Trübungstest stehen aber die Resultate mit den wahren Gamma-Globulingehalten besser in Übereinstimmung als bei dem weitgehend subjektiven Sublimattiter. — *Ausführung.* Man versetzt 0,1 ml Serum mit 5 ml Pufferlösung p_H 7,2 (28 ml 0,0667 m KH_2PO_4-Lösung + 72 ml 0,0667 m $Na_2HPO_4 \cdot 2\,H_2O$-Lösung) und 0,4 ml 0,047%iger $HgCl_2$-Lösung und schüttelt kräftig. Nach 20 min wird die Trübung bei 430 mμ in einem Rohr von 10 mm ⌀ abgelesen. Der Blindwert wird mit 5,4 ml Pufferlösung und 0,1 ml Serum festgestellt. Berechnung: Extinktion/0,07 = Sublimateinheiten.

A. Kurtenacker

Adenin und seine Derivate (Adenosin, Adenylsäure) geben nach Vorbehandlung durch Erhitzen mit Säure eine violette Farbreaktion mit Folin-Reagens (frisch bereitete 0,2%ige Lösung von 1,2-Naphtochinon-4-sulfonsaurem Natrium in halbgesättigter Sodalösung), wie H. Boser[4] berichtet. Das bei der Säurebehandlung entstehende „farbgebende Adenin" hat papierchromatographisch und ionophoretisch den gleichen R_f-Wert wie Adenin. Ninhydrinpositive Substanzen, wie sie etwa beim Abbau des Adenins zu CO_2, NH_3 und Glykokoll auftreten müßten, lassen sich nicht nachweisen. Adenin ist nur schwierig in die farbgebende Base überführbar, z. B. durch mindestens 5stündige Einwirkung von 60%iger Schwefelsäure bei 100° C. In Bindung mit Ribose (Adenosin, Nucleotid und Nucleinsäure) gelingt die „Umwandlung" bereits durch 15—60 min langes Erhitzen mit n Salzsäure. Verf. empfiehlt das Folin-Reagens für die papierchromatographische Untersuchung von Nucleoproteidhydrolysaten.

H. Sperlich

Die Mono-, Di- und Triphosphate von Adenosin, Guanosin, Inosin und Uridin werden nach R. Bergkvist und A. Deutsch[5] *durch Ionenaustausch-Chromatographie getrennt.* Die Verff. benutzen eine Säule mit Dowex 1 (250—500 mesh) in der Formiat-Form in einer Schicht von 0,6 cm² × 6 cm mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 0,5 ml/min. Das Gemisch der Polyphosphatester in einer Menge von etwa je 1 mg und in Form der Ammoniumsalze wird in einer Lösung mit dem p_H-Wert 11,0 auf die Säule gebracht. Es werden nacheinander eluiert: Adenosinmonophosphat durch 0,1 m Ameisensäure (I) p_H 2,5; Uridinmonophosphat und danach

[1] Siehe Fußnote [3] S. 228.

[2] Pharmac. Weekbl. **90**, 549—554 (1955) [Holländisch]. Gemeente Zieckenhuis, Arnhem (Holland).

[3] Acta med. scand. **149**, 237—242 (1954). Med. Fak., Zagreb (Jugoslawien).

[4] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **298**, 145—150 (1954). Forsch.-Inst. Diabetes, Karlsburg b. Greifswald.

[5] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **8**, 1877—1879 (1954). Univ. Lund (Schweden).

Inosinmonophosphat durch 0,1 m I + 0,05 m Natriumformiatlösung (II) p_H 3,4; Guanosinmonophosphat durch 0,1 m I + 0,1 m II p_H 3,6; Uridindiphosphat, dann Adenosindiphosphat, dann Inosindiphosphat durch 0,1 m I + 0,3 m II p_H 4,1; Guanosindiphosphat, dann Uridintriphosphat durch 0,1 m I + 0,4 m II p_H 4,2; Inosintriphosphat, dann Adenosintriphosphat (stark überlappt) durch 0,1 m I + 0,5 m II p_H 4,3; schließlich Guanosintriphosphat durch 0,1 m I + 1,0 m II p_H 4,5. Es werden mindestens 95%ige Ausbeuten erzielt. Elutionskurve ist im Original einzusehen. R. KLEMENT

Röntgenpulverdiagramme (DEBYE-SCHERRER-Diagramme) von 27 kristallisierten Steroiden haben J. PARSONS und W. T. BEHER[1] aufgenommen und die Schmelzpunkte der Verbindungen bestimmt. Die Spektren sind abgebildet und die Beugungsdaten sind in Zahlentafeln zusammengestellt. Im allgemeinen ist schon ein visueller Vergleich der Spektren mit den von Standardmustern zur Identifizierung der Steroide ausreichend, ohne daß die d-Werte berechnet werden müßten. A. KURTENACKER

Zum Nachweis von Steroiden in der Papierchromatographie ziehen A. BODÁNSZKY und J. KOLLONITSCH[2] den seither hierfür gebräuchlichen Reagentien (wie Dinitrophenylhydrazin, ZIMMERMANNS Reagens u. a.) das sonst nur als Zuckerreagens bekannte Anilin-hydrogenphthalat vor; es färbt das Papier nicht an und läßt die Tüpfel entsprechend deutlicher hervortreten. Eine weiterhin stark verbesserte, und zwar rund zehnfache Empfindlichkeit wird erzielt, wenn statt des Anilins p-Phenylendiamin verwendet wird. Auch läßt sich die Phthalsäure durch Oxalsäure, das p-Phenylendiamin durch α- oder β-Naphthylamin ersetzen. Die vorgeschlagenen Reagentien sind von einer gewissen Selektivität; sie sprechen farbmäßig nur auf Steroide mit der Δ 4-3-Ketogruppe im A-Ring an, wobei überwiegend rötlichbraune bis braune Farbtöne entstehen. *Testosteron* und *Iso-Ergosteron* liefern orangefarbene, *Δ 4,16-Dien-3,20-dion* und *Δ 1,4-Adrostadien-3,20-dion* gelbe Töne. Die Erfassungsgrenze (wohl auf p-Phenylendiamin-hydrogenphthalat bezogen) beträgt 2—3 μg Steroid. R. KLOCKMANN

Kristalline Steroide und Steroid-Abbauprodukte lassen sich nach W. SCHROEDER und K. D. VOIGT[3] *mittels Papierelektrophorese und anschließender Gegenstromverteilung trennen.* Das Untersuchungsmaterial wird bei 60° C in Pyridin mittels Bernsteinsäureanhydrid in die Halbester übergeführt und aus diesen werden durch Titration mit alkoholischer Natronlauge auf p_H 7,0 die Natriumsalze gewonnen. Diese trennt man papierelektrophoretisch in 20% methanolischem Phosphatpuffer bei p_H 7,2 mit der Ionenstärke 0,045 bei 400 V Spannung innerhalb 2 Std nach der Technik von C. VON HOLT, K. D. VOIGT und K. GAEDE[4]. In einem Teil des Streifens bestimmt man durch UV-Bestrahlung die Lage der Banden, die aus dem Rest des Streifens mit 50%igem Methanol eluiert werden. Die Gegenstromverteilung führt man mit dem System Methanol-Phosphatpuffer (1:1) gegen Tetrachlorkohlenstoff-Chloroform (1:1) durch, wobei die Verteilungskurve durch Messung der Absorption der einzelnen Gefäße bei 245 mμ festgelegt werden kann. Im Original wird die spezielle Methode zur Trennung von *Testosteron, Cortison und Desoxycorticosteron* beschrieben. Die Befunde werden durch mehrere Photos, Diagramme und Tabellen belegt. K. SÖLLNER

---

[1] Analyt. Chemistry **27**, 514—517 (1955). Henry Ford Hosp., Detroit, Mich. (USA).

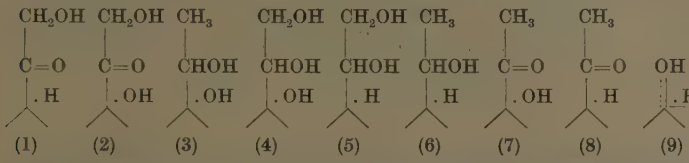
[2] Nature (London) **175**, 729—730 (1955). Res. Inst. Pharmac. Industry, Budapest.

[3] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 603—612 (1955). Hamburg-Eppendorf.

[4] Biochem. Z. **323**, 945 (1952).

Den störenden Einfluß von Chloriden auf die Oxydation von Nebennierenrinden-Steroiden durch Natriumbismutat studierten D. C. SMITH und S. L. TOMPSETT[1]. 2 mg Steroid werden in 20 ml 50 Vol-%iger Essigsäure im Dunkeln mit 2 g Natriumbismutat geschüttelt, zentrifugiert und 10 ml des blanken Zentrifugates nach Neutralisation mit Natronlauge 3mal mit 50 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten $CHCl_3$-Auszüge werden nach dem Waschen mit 50 ml 1 n Natronlauge und 2mal mit 50 ml Wasser mit Na_2SO_4 getrocknet und abgedampft. Mit dem in aldehydfreiem Äthanol gelösten Trockenrückstand führt man die ZIMMERMANN-Reaktion nach der Technik des *Medical Research Council* (1951) durch. Setzt man bei Durchführung des beschriebenen Verfahrens unter Einsatz von allo-Pregnandiol oder Androstandiol jeweils 150 mg NaCl zu, so werden abweichende Werte erhalten. Die gleichen Diskrepanzen sind zu beobachten, wenn die Steroide in kochsalzhaltigem Urin bestimmt werden sollen. K. SÖLLNER

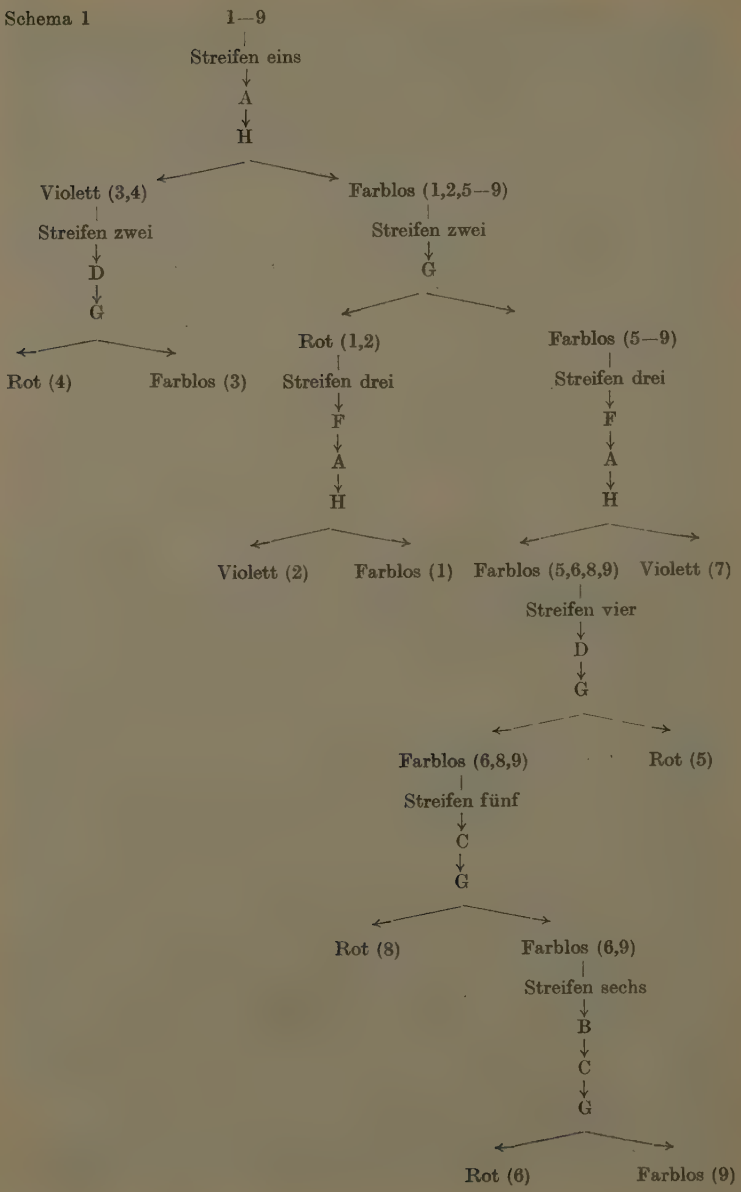
Analyse von Steroiden. Die charakteristischen funktionellen Gruppen der Steroide



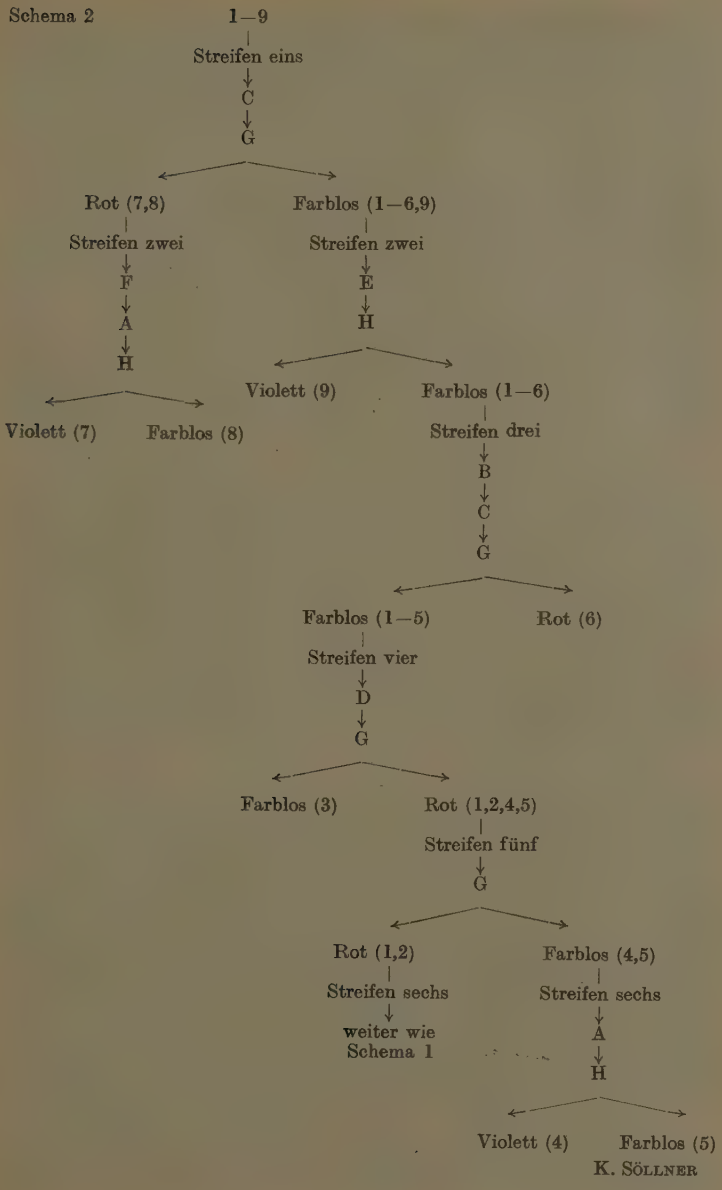
lassen sich nach folgendem, von L. R. AXELROD[2] entwickelten Mikroverfahren bestimmen. Reagentien: A) 3%ige Lösung von Perjodsäure in Methanol-Wasser (1:1) (3 Monate haltbar). B) 0,4% Chromtrioxyd in 90%iger Essigsäure. Die Reaktionen werden mit der siedenden Lösung durchgeführt. Diese ist brauchbar, bis die anfangs rotbraune Farbe in grünlich umschlägt. C) gesättigte Lösung von Bleitetraacetat in einer Mischung von 19 Vol Eisessig und 1 Vol Acetanhydrid. D) 0,2%ige Lösung von Chromtrioxyd in Acetanhydrid; 36 Std haltbar. E) frisch bereitete, 1%ige Lösung von Aluminium-isopropoxyd in Toluol-Cyclohexanon (1:1) (OPPENAUER-Reagens). F) frisch bereitete 1—2%ige Suspension von fein zerteiltem Lithium-Aluminiumhydrid in absolutem Äther. G) 0,2%ige wäßrige Triphenyltetrazoliumchloridlösung, die unmittelbar vor dem Gebrauch mit dem gleichen Volumen 3,5 n Natronlauge gemischt wird, H) 1%ige methanolische m-Dinitrobenzollösung, unmittelbar vor dem Gebrauch mit 1/2 Volumen 15%iger Kaliumhydroxydlösung gemischt. — *Ausführung der Reaktionen.* Auf mehrere etwa $7\frac{1}{2} \times 2\frac{1}{2}$ cm große Streifen Whatman-Papier Nr. 1 bringt man mittels einer Mikropipette an einer Schmalseite des Streifens in einen Kreis von 0,7 cm Durchmesser etwa 15 μg des gelösten Steroides und trocknet im Stickstoffstrom. Nun werden die Streifen gemäß untenstehendem Schema I oder II nacheinander in die angegebenen Reagentien getaucht, so daß der Substanzflecken vollkommen benetzt ist, auf etwa $12\frac{1}{2} \times 7\frac{1}{2}$ cm große Glasplatten gebracht und durch Auflegen von Glasstäbchen fixiert. Nachdem der größte Teil des Lösungsmittels verdunstet ist, bringt man Glasplatte mit Streifen auf eine etwa 80° C warme Heizplatte. Nach dem Trocknen der völlig den Glasplatten anliegenden Streifen tritt die Farbreaktion auf oder es folgt die Weiterbehandlung der Streifen mit anderen Reagenslösungen. Die Behandlung des Untersuchungsmaterials wird nach folgenden Schemata vorgenommen: (siehe Seite 232 und 233)

[1] Analyst (London) **80**, 397—399 (1955). North. General Hosp., Edinburgh.
[2] Analyt. Chemistry **27**, 1308—1311 (1955). Univ. Rochester, N. Y. (USA).

Schema 1


1—9
Streifen eins
A
H
Violett (3,4)
Streifen zwei
D
G
Rot (4)
Farblos (3)
Farblos (1,2,5—9)
Streifen zwei
G
Rot (1,2)
Streifen drei
F
A
H
Violett (2)
Farblos (1)
Farblos (5—9)
Streifen drei
F
A
H
Farblos (5,6,8,9)
Violett (7)
Streifen vier
D
G
Farblos (6,8,9)
Rot (5)
Streifen fünf
C
G
Rot (8)
Farblos (6,9)
Streifen sechs
B
C
G
Rot (6)
Farblos (9)

Schema 2



K. Söllner

Zur colorimetrischen Bestimmung der 17-Ketosteroide im Urin wird von M. Pérez Zubizarreta Sánchez[1] eine Abänderung der von Nathanson-Wilson modifizierten Methode von Holtorff-Koch beschrieben: Der 4. Teil des 24 Std-Urins wird mit 15 ml konz. Salzsäure für je 100 ml Urin 10 min im schwachen Sieden gehalten. Nach Beendigung der Hydrolyse wird 4mal mit peroxydfreiem Äther (je 20% des ursprünglichen Urinvolumens) ausgeschüttelt; der Ätherextrakt wird einmal mit 7,5 Volumteilen 1 n NaOH-Lösung und 3mal mit 3 Volumteilen Wasser je 100 Teile Ätherlösung ausgewaschen. Die ätherische Lösung wird dann, wenn nötig, auf 150 ml eingeengt und 3mal mit 50 ml 1 n NaOH-Lösung und 3mal mit 25 ml Wasser ausgewaschen und dann zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird mit genau 10 ml abs. Alkohol aufgenommen. Zur colorimetrischen Messung versetzt man 0,2 ml dieser Lösung mit 0,2 ml der alkoholischen 2%igen m-Dinitrobenzollösung und 0,2 ml der wäßrigen 5 n KOH-Lösung. Ebenso wird eine Blindprobe bereitet und eine Standardprobe mit 0,2 ml einer alkoholischen Dihydroepiandrosteronlösung (0,5 mg/ml abs. Alkohol). Nach leichtem Umschütteln gibt man die Lösungen in ein Wasserbad und hält auf 25° C. Nach 100 min nimmt man die Proben aus dem Wasserbad, fügt 10 ml 70%igen Alkohol hinzu, schüttelt um und mißt die Durchlässigkeit in dem Zeitraum von 3—15 min bei 420—520 mμ. Die Durchlässigkeit muß bei 55% ± 10% liegen, da nur in diesem Bereich das Beersche Gesetz erfüllt wird. Irmgard Schweitzer

Oestriol, Oestron und Oestradiole lassen sich, gelöst in Nitrobenzol, nach H. Rosenkrantz[2], mit einem Propylenglykol-Toluolgemisch papierchromatographisch trennen. Der geringere R_f-Wert des Oestrons (17-Ketosteroid) im Vergleich zum zugehörigen sekundären Alkohol (Oestradiol) ist im Hinblick auf die Beziehungen zwischen Chromatogrammunterlage und Struktur überraschend. O. Siblíková-Zbudovská und I. M. Hais[3] überprüften deshalb die Angabe von H. Rosenkrantz, konnten sie aber nicht bestätigen. Sie fanden, daß β-Oestradiol langsamer als Oestron wandert. Bei einer Frontwanderlänge von 35 cm befand sich das 17-β-Oestradiol 0,8—2,5 cm und das Oestron 12—13,7 cm von der Startlinie entfernt. Mit einem Gemisch von Formamid und Benzol-Chloroform (4:1) nach O. Zbudovská und I. M. Hais[4] ergab sich für Oestradiol die Entfernung 10,5 bis 12,2 cm und für Oestron 20—21,7 cm bei einer Frontwanderung von 26 cm. H. Rosenkrantz hält es in einer Mitteilung an die Verff. für möglich, daß er sich bei seinen Versuchen geirrt habe. H. Freytag

Die Bestimmung des Wirkungswertes von Trypsin (I) und Chymotrypsin (II) auf spektrophotometrischem Wege ist nach G. W. Schwert und Y. Takenaka[5] auf Grund der Tatsache durchführbar, daß sich die UV-Absorptionsspektren von l-Tyrosin (T) bzw. N-Benzoylarginin (BA) grundlegend von denen des l-Tyrosinäthylesters (TEE) bzw. des N-Benzoyl-argininäthylesters (BAEE) unterscheiden. Da die Tyrosinester Substrate von Chymotrypsin sind, ist damit eine Methode zur Bestimmung der Aktivität von Chymotrypsin gegeben. Man bringt in die Kontrollküvette eines Beckman DU-Spektrophotometers bei 25° C 3 ml einer 0,001 m T-Lösung in 0,05 m Phosphatpuffer von p_H 6,5 und 0,2 ml der zu testenden II-Lösung

[1] Laboratorio (Granada) **20**, 113—116 (1955). S. O. de Enfermedad de Trujillo (Cáceres) (Spanien).

[2] Arch. Biochem. Biophysics **44**, 1 (1953); **46**, 260 (1953); vgl. diese Z. **145**, 379 (1955).

[3] Chem. Listy **48**, 1263 (1954) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. Pharm. Biochem. Prag.

[4] Chem. Listy **46**, 307 (1952).

[5] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **16**, 570—575 (1955). Duke Univ. School of Medic., Durham, North Carolina (USA).

in 0,001 n Salzsäure und stellt den Apparat auf 0 ein. Dann stellt man in einer zweiten Küvette unter Verwendung von TEE-Lösung an Stelle von T den gleichen Ansatz her und bestimmt vom Zeitpunkt der Zugabe der Fermentlösung ab die optische Dichte in Zeitabständen von je 15 sec, bis auch hier der Wert 0 erreicht ist. I kann auf analoge Weise unter Verwendung von BA bzw. BAEE bestimmt werden. Bezüglich der Auswertung der Messungen wird auf das Original verwiesen.

K. Söllner

Zur Bestimmung von Triosephosphaten und der Aldolaseaktivität nach J. A. Sibley und A. L. Lehninger[1] teilt W. S. Beck[2] Verbesserungen mit. Unterwirft man ein Triosephosphat, z. B. Glycerinaldehyd-3-phosphat (G-3-P) oder Dioxyacetonphosphat (DHA-P), der Reaktionsfolge von Sibley und Lehninger, indem man eine dieser Substanzen an Stelle von Fructose-1,6-diphosphat (und Wasser an Stelle von biologischem, d. h. enzymhaltigem Gewebe) bei p_H 8,6 mit Hydrazinlösung zunächst 30 min bei 38° C hält, dann mit Trichloressigsäure versetzt, mit Natronlauge alkalisch macht, zur Phosphorsäureabspaltung 10 min bei Zimmertemperatur stehen läßt, salzsaure 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung (2,4-DNPH) hinzufügt, zur Farbstoffbildung 10 min bei 38° C aufbewahrt, mit Natronlauge wieder alkalisch macht und nach nochmals 10 min die Extinktion bei 540 mμ mißt, so erhält man bei DHA-P einen Wert, der 1,8mal so groß ist wie der bei G-3-P. Liegt ein Gemisch von DHA-P und G-3-P vor, so kann man aus der Extinktion bei 540 mμ und dem gesondert bestimmten Gehalt an durch Alkali abspaltbarem P (entsprechend der Summe der beiden Triosephosphate) das Mengenverhältnis der Bestandteile berechnen. DHA-P und G-3-P ergeben dieselben farbigen Reaktionsprodukte, nämlich Methylglyoxal-2,4-dinitrophenylosazon neben wenig Brenztraubensäure-2,4-dinitrophenylhydrazon, aber G-3-P reagiert langsamer. Erst wenn man die Reaktionszeit mit 2,4-DNPH (vor dem Zusetzen der Natronlauge) von 10 auf 60 min ausdehnt, erhält man mit beiden Triosephosphaten denselben Extinktionswert. Da bei der ersten Alkalizugabe (nach dem Unterbrechen der Enzymwirkung durch Trichloressigsäure) die Phosphorsäure bereits abgespalten wird, kann man bei Aldolasebestimmungen die leichter zugänglichen phosphorsäurefreien Triosen als Eichsubstanzen benutzen, wobei man mit 2,4-DNHP 60 statt 10 min reagieren läßt. Die Dauer der Enzymeinwirkung kann man von 30 auf 15 min bei 38° C abkürzen.

F. Neumann

Zur colorimetrischen Bestimmung von Blut-Arginase versetzt man nach M. M. Friedman und E. Becker[3] zunächst 1 ml Oxalat-Blut mit 9 ml 0,05%iger Saponinlösung, mischt und läßt 30 min bei Raumtemperatur stehen. Nach weiterem Zusatz von 0,5 ml 20%iger $MnCl_2 \cdot 4\,H_2O$-Lösung zur Aktivierung der Arginase läßt man weitere 2 Std stehen und überführt von dem Ansatz 2 Proben zu je 2 ml in zwei mit T_1 und T_2 markierte Reagensgläser. Zu T_1 wird 1 ml Arginin-Substrat (AS) (9,0 g l-Argininmonohydrochlorid „Merck" + 3,2 ml CO_2-freie 9 n Natronlauge, mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt, ergibt eine 0,85 m Lösung mit p_H 9,5) gegeben, genau 10 min bei 25° C stehen gelassen und dann mit 2,0 ml 15%iger Trichloressigsäurelösung (TCS) versetzt. T_2 erhält zuerst 2 ml TCS und dann 1 ml AS. Nach 15 min Stehen filtriert man beide Ansätze. Ein Blindreagens (B) wird durch Mischen von 0,1 ml Manganlösung mit 1,9 ml Saponinlösung, 2,0 ml TCS und 1 ml Arginin-Substrat hergestellt. Je 2 ml T_1, T_2 und B mischt man mit je 15 ml Schwefel-Phosphorsäure (SPS) (90 ml konz. Schwefelsäure + 270 ml 85%ige Phosphorsäure, mit Wasser auf 1000 ml ergänzt), überführt je 10 ml in Pyrex-Gläser, gibt je 0,5 ml einer 3%igen

[1] J. biol. Chemistry **177**, 859 (1949).
[2] J. biol. Chemistry **212**, 847—857 (1955). Univ. Los Angeles, California (USA).
[3] Clin. Chemistry **1**, 110—116 (1955). Pack Medical Foundation, New York (USA).

Lösung von α-Isonitrosopropiophenon (I) in 95%igem Äthanol zu, verschließt mit einem mit einer Capillare versehenen Gummistopfen und erwärmt im Dunkeln 1 Std im siedenden Wasserbad. Dann kühlt man die Gläser auf 50—55° C, füllt deren Inhalt in angewärmte Küvetten und bestimmt im Colorimeter mit einem 540 mμ-Filter die Extinktion der drei Lösungen, wobei die Durchlässigkeit von B gleich 100 gesetzt wird. Zur Herstellung der Eichkurve bringt man zu 1, 2, 3, 4, 5 und 6 ml einer Harnstoff-Arbeitslösung, die durch Mischen von 1 Tl. einer Lösung von 67,3 mg Harnstoff in 100 ml Wasser mit 24 Tl. SPS erhalten wurde, 8, 7, 6, 5, 4 und 3 ml SPS, setzt jedem Röhrchen 1 ml einer Mischung von 5 ml AS, 10 ml TCE und 5 ml Wasser zu und führt nach der beschriebenen Methode die Harnstoffbestimmung durch Zusatz von I und Messen der Extinktion durch. Da 1 ml der Harnstoff-Arbeitslösung 10 Blut-Arginase-Einheiten entspricht, kann deren Gehalt im Blut unmittelbar auf der Kurve abgelesen werden, nachdem der Wert von T_2 von T_1 subtrahiert wurde. K. Söllner

Über die fluorimetrische Bestimmung von β-Glucosidase berichten D. Robinson und R. T. Williams[1]. Man läßt das Enzym auf 0,0005 m Lösungen des β-Glucosides in einem 0,14 m Acetat-Puffer bei p_H 5,2 genau ½ Std einwirken. Die Mengen von Enzym, Substrat und Puffer entsprechen denen, welche früher[2] mitgeteilt wurden. Das in Freiheit gesetzte 4-Methylumbelliferon wird fluorimetrisch in einem Glycin-Puffer bei p_H 10,3 bestimmt. Die β-Glucosidase konnte von der β-Glucuronidase unterschieden werden dadurch, daß das letztgenannte Enzym durch Saccharat gehemmt wird und daß die Wirkungen beider Substrate bei Zugabe zu Heuschreckenkropfflüssigkeit sich addierten.

Kalium-4-Methylumbelliferonsulfat war ungeeignet für die fluorimetrische Bestimmung der Arylsulphatase, da es 230mal schwächer fluoresciert als 4-Methylumbelliferon. Es wurde daher am besten durch die Arylsulphatase der Takadiastase bei p_H 5,4—5,8 hydrolysiert. J. Eisenbrand

Für die colorimetrische Bestimmung von Dihydrostreptomycin (I) empfehlen K. Kakemi und T. Arita[3] die Farbreaktion, die I (und auch Streptomycin) mit Natrium-pentacyano-amminferroat und Kaliumhexacyanoferrat(III) auf Zusatz von Aceton gibt. Die Farbintensität folgt dem Beerschen Gesetz. Die Eichkurve wird mit Dihydrostreptomycin als Standard aufgestellt. Die erhaltenen Werte zeigten gute Übereinstimmung mit denen der mikrobiologischen Methode.

H. Sperlich

Zur Bestimmung von Benzylpenicillin in Gäransätzen haben G. C. Ashton und M. C. Foster[4] eine Isotopenverdünnungstechnik entwickelt. Die chemische Bestimmung von Benzylpenicillin neben andern Penicillinen gründet sich auf die Bestimmung der Phenylacetylgruppe, die aber kompliziert wird durch die gleichzeitige Anwesenheit anderer Phenylacetylderivate. Nach dem Verfahren der Verff. wird ^{14}C-Benzylpenicillin von einer bestimmten Radioaktivität der zu untersuchenden Lösung zugegeben. Nach Extraktion der Ansätze mit Chloroform werden die Penicilline in gut kristallisierende Derivate übergeführt, wobei den Isopropylätheraten vor den N-Äthylpiperidiniumsalzen der Vorzug gegeben wird. Daraus wird dann nach Hydrolyse reine Phenylessigsäure hergestellt und die Radioaktivität

[1] Biochemic. J. **61** (Proc.), V (1955). St. Mary's Hospital Medical School, London.

[2] Mead, J. A. R., J. N. Smith and R. T. Williams: Biochemic. J. **58**, XXXV (1954).

[3] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 192—193 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Univ. Kyoto (Japan).

[4] Analyst (London) **80**, 123—132 (1955). Ghaxo Lab. Ltd., Stoke Poges, Bucks.

dieser Substanz bestimmt. Aus dieser und der Aktivität des zugesetzten radioaktiven Präparates läßt sich dann die Menge an Benzylpenicillin in den Ansätzen errechnen. Die Darstellung des markierten Benzylpenicillins geht vom $Ba^{14}CO_3$ aus, aus dem zunächst Phenylessigsäure hergestellt wird. Diese wird in besonderen Gäransätzen in Benzylpenicillin übergeführt und daraus als N-Äthylpiperidiniumsalz isoliert. Das daraus hergestellte Kaliumsalz wird dann papierchromatographisch auf seine Reinheit geprüft. Die Originalarbeit enthält eine ausführliche Beschreibung der Methodik sowie Beleganalysen. L. Acker

Die UV-spektrophotometrische Bestimmung von Erythromycin (E) führen J. B. Tepe und C. V. St. John[1] unter Benützung der starken UV-Absorptionsfähigkeit eines durch Alkalieinwirkung entstehenden Zersetzungsproduktes dieses Antibioticums durch. Zur Ermittelung der Standardabsorptionskurve werden 25 mg E in 1 ml absolutem Methanol gelöst und mit frisch destilliertem Wasser auf 25 ml aufgefüllt. Aus dieser Stammlösung stellt man durch Verdünnen mit frisch destilliertem Wasser Lösungen her, die in 5 ml zwischen 100 und 800 μg E enthalten. Von je viermal 5 ml dieser Verdünnungen werden 2 nach Zusatz von je 0,5 ml 0,05 n Schwefelsäure 1 Std bei Raumtemperatur zur Reaktion stehen gelassen. Die beiden letzten Proben erhalten je 1,0 ml 0,05 n Natronlauge, dann erhitzt man sie 5 min im lebhaft siedenden Wasserbad, kühlt rasch ab, ergänzt die Lösung auf 10 ml und bestimmt die UV-Absorption mit dem Beckman DU-Quarzspektrophotometer bei 236 mμ innerhalb 20 min. Die säurehaltigen Blindproben versetzt man nach einer Stunde mit je 1,5 ml 0,05 n Natronlauge, erhitzt sie ebenfalls 5 min im Wasserbad, kühlt, ergänzt auf 10 ml und bestimmt gleichfalls die UV-Absorption bei der angeführten Wellenlänge. Die Differenzen der Extinktionswerte gleichkonzentrierter Testlösungen ergeben die Standardkurve. Die zu untersuchenden Analysenproben werden auf die gleiche Weise behandelt, nachdem man sie soweit verdünnt hat, daß sie etwa 500 μg E in 5 ml enthalten. Liegen nichtwäßrige E-Lösungen vor, so dampft man eine gewogene Probe zur Trockne ein, nimmt den Trockenrückstand in 1—2 ml Methanol auf und verfährt nach der beschriebenen Methode weiter. Erforderlichenfalls muß E aus seinen Lösungen nach deren Ansäuern auf p_H 4 mit Diglykolsäure unter Eiskühlung mit organischen Lösungsmitteln ausgeschüttelt werden (UV-Absorptionskurven im Original). K. Söllner

Eine Methode zur mikrobiologischen Bestimmung von Neomycin (Nn) entwickelten J. Dony und J. Conter[2]. Als Testorganismus dient Klebsiella pneumoniae P.C.I. 602, die in Abständen von je 8 Tagen auf einem Kulturmedium (A) aus 1,5 g Rindfleischextrakt, 3 g Hefeextrakt, 6 g Pepton und 15 g Gelose in 1000 ml Wasser, das nach der Sterilisation auf p_H 7,2 eingestellt wird, weitergezüchtet werden kann. Die für die Durchführung der Trübungsmessungen benötigte Nährlösung (B) besteht aus je 1,5 g Rindfleisch- und Hefeextrakt, 5 g Pepton, 1 g Dextrose, 3,5 g NaCl, 3,68 g K_2HPO_4 und 1,32 g KH_2PO_4, in 1000 ml Wasser gelöst, sterilisiert und auf p_H 7,0 eingestellt (Verff. verwendeten die DIFCO-Präparate Bacto beef extract, Bacto Yeast extract, Bacto peptone . . .). — Zur Gewinnung der Impfkultur verfährt man nach der Methode von Kersey[3]. Unmittelbar vor Durchführung der Testung mischt man 6 ml dieser Impfsuspension mit 1000 ml der Nährlösung B. Als Standard stellt man in einer Phosphatpufferlösung (p_H 8) Lösungen von 6, 9, 12 und 15 μg Nn/ml her. Die Analysenprobe verdünnt man mit dem

[1] Analyt. Chemistry **27**, 744—746 (1955). Lilly & Co., Indianopolis, Ind. (USA).

[2] J. Pharmac. Belgique N. S., **10**, 104—108 (1955). Service Contrôle Médicaments, Assoc. Pharmac. Belge.

[3] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **252**, (1950).

gleichen Puffer auf einen Gehalt von etwa 11 μg Nn/ml. Nun werden in sterilen Reagensgläsern 6mal je 1 ml der Standardlösungen sowie der Analysenprobe mit je 9 ml der Klebsiella-Suspension gemischt und 3—3,5 Std bei 37° C bebrütet. Nach Unterbrechung des Wachstums der Mikroben durch Zusatz von je 2 Tropfen Formol bestimmt man die Trübungen der einzelnen Ansätze. Durch Vergleich des Mittelwertes der Trübungen jeder Serie mit denen der Standardproben läßt sich der Gehalt des Untersuchungsmateriales an Nn bestimmen. Die gefundenen Werte bewegen sich zwischen 93 und 105% der Theorie. K. Söllner

Das Antibioticum Oxytetracyclin kann nach K. Kakemi, T. Uno und M. Samejima[1] auf folgende Weise colorimetrisch bestimmt werden: Eine Lösung von Oxytetracyclin in einer Essigsäurepufferlösung von p_H 4 wird mit einer 1%igen Ammoniummolybdatlösung 15 min auf 60° C erhitzt und dann mit dem gleichen Volumen einer Mischung von Äthylacetat und Äther ausgeschüttelt. Man füllt dann die wäßrige Phase auf ein bestimmtes Volumen auf, mißt die Extinktion dieser Lösung mit dem Filter S 50 und S 66 und berechnet den Wert $E_{S\,50}—E_{S\,66}$.
H. Sperlich

Zur Bestimmung der Pantothensäure, die in den Zellen meist als Co-Enzym A vorliegt, wurde das Coenzym bisher durch Meerschweinchenleberpulver gespalten und die Pantothensäure anschließend mikrobiologisch bestimmt. B. S. Schweigert und B. T. Guthneck[2] finden, daß man mit demselben Erfolg Schweinenierenextrakt verwenden kann, besonders wenn dieser mit Dowex vorbehandelt wird, um die Leerwerte zu vermindern. Die nötige Phosphatase wurde aus Darmschleimhaut gewonnen und so stark konzentriert, daß 1 ml 250 Schmidt-Tannhauser-Einheiten entsprach. — *Arbeitsweise.* 0,2 ml Darmphosphatase, 1,25 ml mit Dowex behandelter Schweinenierenextrakt, 0,1 ml 0,1 m $NaHCO_3$-Lösung und 0,5 ml der Probe werden mit dest. Wasser auf 2 ml gebracht. Nach Bebrütung über 4 Std bei 37° C wird auf 5 ml verdünnt und die biologische Auswertung mit *Lactobacillus arabinosus* durchgeführt. Ein Vergleich wurde zum Teil mit *Lactobacillus caseiae* vorgenommen. Die Untersuchung einer großen Reihe von Organen ergab, daß Leber, Niere und Pankreas am reichsten an Pantothensäure sind, dann folgt Herz und Gehirn, wenig enthält Lunge und Milz. K. Hinsberg

Eine Methode zur chromatographischen Zerlegung und Untersuchung der Nucleotide, die in Perchlorsäureextrakten von Geweben vorhanden sind, wird von R. B. Hurlbert, H. Schmitz, A. F. Brumm und V. B. Potter[3] beschrieben. Die Extrakte werden auf Dowex 1-Säulen in der Formiatform chromatographiert. Dabei wird die Gradientelution angewendet, d. h. die Konzentration des Eluenten wird stufenweise und reproduzierbar gesteigert durch Anwendung eines mechanischen Mischapparates. Zur weiteren Aufteilung der einzelnen Komponenten werden die Spitzenfraktionen nochmals an Dowex 1 in Formiatform chromatographiert und dann mit einem Ammoniumformiatpuffer stufenweise gesteigerter Konzentration eluiert. Die relativen Beweglichkeiten der Nucleotide sind verschieden groß. Das Verfahren wird an dem Beispiel der Untersuchung des säurelöslichen Leberextraktes genau beschrieben. Eine Reihe bekannter Verbindungen wird dabei identifiziert, außerdem werden einige unbekannte Nucleotide einschließlich einiger Adenosinphosphate festgestellt und ihre Charakteristiken diskutiert. K. Hinsberg

[1] J. pharmac. Soc. Japan **75**, 194—196 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Univ. Kyoto (Japan).
[2] J. Nutrit. **51**, 283—293 (1953). Univ. Chicago, Ill. (USA).
[3] J. biol. Chemistry **209**, 23—29 (1954). Univ. Madison, Wisconsin (USA).

5. Toxikologische Analyse

Eine Übersicht über die Entwicklung analytischer Methoden in der Toxikologie wird von A. S. CURRY[1] unter Anführung zahlreicher Beispiele gegeben. Während heute auf diesem Gebiet Ultrarot-, Ultraviolett- und Röntgen-Spektrophotometrie eine große Rolle spielen, werden zur Isolierung, Reinigung und analytischen Bestimmung von Giftstoffen auch die einfacheren Methoden der Papierchromatographie, Papierelektrophorese und Ionenaustauschchromatographie in steigendem Maße herangezogen. Verf. behandelt die mit Wasserdampf aus saurer und aus alkalischer Lösung flüchtigen Giftstoffe, ferner die Verbindungen, die sich aus ätherischer Lösung mit Natriumhydrogencarbonatlösung und mit Natronlauge ausschütteln lassen und weiterhin die aus ätherischer Lösung mit Alkali nicht extrahierbaren nichtbasischen Verbindungen. Die aus ammoniakalischer Lösung durch organische Lösungsmittel extrahierbaren Gifte sind unter anderem Gegenstand der weiteren Besprechung. (194 Literaturzitate.) B. SCHÜHLEIN

Einen Analysengang zur Identifizierung von Giften in verdächtigen Lebensmitteln gibt M. A. GUATELLI[2]. Den ersten Anhalt bei der Untersuchung gibt stets die organoleptische Untersuchung, die oft den Analysengang wesentlich vereinfachen kann. Dann folgt die Prüfung der Reaktion der entsprechend zerkleinerten Probe im wäßrigen Auszug. Das Destillat der weinsauren Probe wird auf HCN (Ferrocyanidprobe) und Phosphor, Formaldehyd, Chloralhydrat u. a. (reduzierende Wirkung auf $AgNO_3/NH_3$) untersucht. Mit der Hälfte des Rückstandes wird dann die Probe nach REINSCH (Kupferprobe in salzsaurem Medium und Prüfung des Niederschlags) auf Metalle durchgeführt (Hg, Bi, As, Sb). Die andere Hälfte wird durch Ätherextraktion aus saurem und alkalischem Medium und Prüfung des Abdampfrückstandes auf organische Bestandteile hin untersucht. Nach dieser richtungweisenden Voruntersuchung kann dann exakt durch Herstellen der alkalischen Asche die Prüfung auf Fluorid, Barium, Borat, Zink, Tellur. Zinn, Blei, Kupfer, Cadmium, Wismut nach den üblichen Methoden durchgeführt werden. Bei der Prüfung auf organische Stoffe wird man im sauren Auszug speziell auf Barbitursäurederivate, Glucoside u. ä., im alkalischen Teil auf Alkaloide achten. Außerdem kann man durch Extraktion des mit Weinsäure angesäuerten, mit Natriumsulfat getrockneten Materials mit Petroläther im Soxhlet in der Lösung Fette und verschiedene Medikamente isolieren bzw. als störende Substanzen entfernen und den Rückstand weiter auf organische Bestandteile hin untersuchen.
IRMGARD SCHWEITZER

Eine Methode zur Isolierung von Äthylpiperidylbarbitursäure aus biologischem Material mit nachfolgender Identifizierung wird von F. DYBING[3] beschrieben. — *Arbeitsweise. Extraktion und Reinigung.* Zerkleinertes Organmaterial extrahiert man in der üblichen Weise nach dem STAS-OTTO-Verfahren mit weinsaurem Alkohol. Danach dampft man den Alkohol ab, nimmt mit absolutem Alkohol auf, filtriert, dampft wiederum ein und löst den Rückstand in Wasser. Durch Hinzufügen von Schwefelsäure stellt man die wäßrige Lösung auf etwa p_H 1 ein und schüttelt 3 mal mit Äthyläther aus. Dabei werden Barbitursäuren, die keine basischen Gruppen enthalten, zusammen mit anderen Stoffen entfernt. Die saure wäßrige Lösung bringt man jetzt mit Trinatriumphosphat auf p_H 5—6 und schüttelt 3 mal mit Äther aus,

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **7**, 969—989 (1955). Home Office Forensic Sci. Lab., Harrogate (England).

[2] Rev. Asoc. bioquím. argent. **20**, 67—78 (1955).

[3] Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **11**, 72—78 (1955). Univ. u. Veterinary College, Oslo (Norwegen).

wobei Äthylpiperidylbarbitursäure in Lösung geht. Nach dem Abdampfen des Äthers löst man den Rückstand in Natriumphosphatpufferlösung (p_H 5—6) und schüttelt wieder 3mal mit gleichen Teilen Äther, trocknet die ätherische Lösung über wasserfreiem Natriumsulfat, schüttelt mit etwa 100—200 mg Aktivkohle, filtriert und vertreibt schließlich den Äther. — *Identifizierung.* Nach Sublimation des Rückstandes im Vakuum empfiehlt Verf. die Aufnahme der charakteristischen *Absorptionskurven im UV-Licht* der in 1 n Natronlauge, 0,1 n Schwefelsäure und in Boraxpufferlösung (p_H 10) gelösten reinen Substanz (20 μg/ml). — *Bestimmung des Schmelzpunktes.* Äthylpiperidylbarbitursäure kommt in zwei Kristallformen mit den Schmelzpunkten 214—216° C und 222—223° C vor. Das p-Nitrobenzylderivat der Äthylpiperidylbarbitursäure schmilzt bei 170° C. *Fällungs- und Farbreaktionen.* Mit Salzsäure angesäuerte wäßrige Lösungen von Äthylpiperidylbarbitursäure ergeben Niederschläge mit Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure und Jodjodkalium, nicht aber mit Kaliumquecksilberjodid. Auch mit Schwefelsäure angesäuerte Quecksilbersulfatlösung ergibt im Gegensatz zu anderen Barbitursäuren keine Fällung. Mit Kobaltchlorid und Bariumhydroxyd in absolutem Alkohol erhält man mit Äthylpiperidylbarbitursäure eine Blaufärbung, während mit Kupfersulfat und Pyridin und auch mit den Reagentien nach Mandeline, Fröhde oder Marquis keine Reaktionen eintreten. Zur Isolierung der Äthylpiperidylbarbitursäure schlägt Verf. ferner die papierchromatographische Methode mit Filtrierpapier Whatman Nr. 1 unter Verwendung des sauren Lösungsmittelgemisches n-Butanol + Ameisensäure + Wasser (120 + 10 + 70) vor; der R_f-Wert beträgt 0,73. B. Schühlein

Zur Charakterisierung von Tinten auf papierchromatographischem Wege wenden C. G. Macris und M. D. Riganezis[1] die Rundfiltermethode nach L. Rutter[2] an. Mit Hilfe dieses Verfahrens, das von den Verff. auch für kriminalistische Untersuchungen empfohlen wird, lassen sich noch Tintenmengen bis herab zu 0,0001 ml ermitteln. — *Ausführung.* Die Probelösung bereitet man durch Verdünnen von 0,1 ml der zu prüfenden Tinte mit 5 ml salzsaurem Äthylalkohol, den man durch Auffüllen von 4 ml konz. Salzsäure mit Äthylalkohol zu 100 ml erhält. Bei der Extraktion der Tinte aus geschriebenen Briefen oder Dokumenten verwendet man als Extraktionsmittel ebenfalls mit Salzsäure angesäuerten Äthylalkohol in der angegebenen Konzentration. — Auf ein Rundfilter von 11 cm ⌀ (Schl. & Sch., Nr. 1101) bringt man 0,005 ml der alkoholischen Tinte oder des Extraktes auf die Knickstelle in der Mitte des Rundfilters, läßt an der Luft trocknen und entwickelt mit einer Mischung von n-Butanol—Eisessig (1:1) oder alkalisch gemachtem Äthylalkohol. Die Entwicklungszeit beträgt 1 Std. Die Prüfung der Chromatogramme erfolgt unter Anwendung verschiedener Reagentien, wie z. B. 1 n Salzsäure, Natriumdithionitlösung (0,5 g Natriumdithionit in 100 ml einer 0,3%igen wäßrigen Natriumhydroxydlösung gelöst), Wasserstoffperoxyd (1 Teil Perhydrol + 1 Teil dest. Wasser) oder einer verdünnten Lösung von Kaliumhexacyanoferrat(II). Je nach Art der Tinte beobachtet man verschiedene Farbänderungen, im UV-Licht verschiedenfarbige Fluorescenzen. B. Schühlein

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 129—134 (1955). Inst. Chem. and Microbiol., Athen (Griechenland).

[2] Nature (London) **161**, 435 (1948); Analyst (London) **75**, 37 (1950); vgl. diese Z. **135**, 53 (1952).